ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. IV No 4

1 9 5 5

COMMONWEALTH MYCOLOGICAL INSTITUTE
29 MAY 19

POLSKIE TOWARZYSTWO MIKROBIOLOGÓW
SEKCJA MIKROBIOLOGII OGÓLNEJ, ROLNICZEJ I PRZEMYSŁOWEJ

ACTA MICROBIOLOGICA POLONICA

microbiologia generalis,
agrobiologica et technica

Vol. IV No 4

1955
PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

RADA REDAKCYJNA

Przewodniczący: Jadwiga Ziemięcka, członek-korespondent PAN — Lublin, Kazimierz Bassalik, członek tytularny PAN — Warszawa, Józef Heller, członek-korespondent PAN — Warszawa, Jadwiga Jakubowska — Łódź, Adolf Joszt — Gliwice, Aniela Kozłowska — Kraków, Władysław Kunicki-Goldfinger — Lublin, Eugeniusz Pijanowski — członek korespondent PAN — Warszawa, Feliks Przesmycki — Warszawa.

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Władysław Kunicki-Goldfinger
Sekretarz Redakcji — Kazimierz Dygdała

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — DZIAŁ CZASOPISM
WARSZAWA, ULICA KRAKOWSKIE PRZEDMIEŚCIE Nr 79

Nakład 1306 (1.127 + 179)	Oddano do składania 20.X.55.
Ark. wyd. 6,3. Ark. druk. 4,25	Podpisano do druku 22.XII.55.
Papier bezdrz. III kl., 80 g, 70×100/16	Druk ukończono w grudniu 1955.
Cena zł 10.—	Zam. 1405c/55. B-6-14561.

Drukarnia im. Rewolucji Październikowej, Warszawa

R. Pakuła and *W. Walczak*

AN ERYTHROCYTE-SENSITISING FACTOR COMMON TO STAPHYLOCOCCI AND HAEMOLYTIC STREPTOCOCCI

Państwowy Zakład Higieny — Warszawa

Obtained 5.VI.1955.

K e o g h, N o r t h and W a r b u r t o n established in 1947 that polysaccharides from smooth strains of *Haemophilus influenzae* are adsorbed on the surface of red blood cells and that homologous antisera cause such cells to agglutinate. Many other bacteria have been analogically investigated since, and it has been demonstrated that not only polysaccharides but also nucleoproteins and other substances of bacterial origin are adsorbed on the surfaces of red cells.

Basing on the results of these investigations, it was to be expected that polysaccharides *C* of haemolytic streptococci are also adsorbed on the red cells, and that these cells will also be agglutinated by the anti-streptococcus immune sera.

The investigations which we initiated (P a k u ł a 1952, P a k u ł a and W a l c z a k 1954) a few years ago have failed to support such assumption with regard to polysaccharides *C*, but have brought the discovery of another erythrocyte-sensitising substance present in both the haemolytic streptococci and the staphylococci. This substance has proved to be identical in both of these micro-organisms. We shall present a few of the experiments which led to the discovery of this substance and we shall discuss some of its known properties.

MATERIAL AND METHODS

In attempting to find a substance adsorbed on the surfaces of red cells, polysaccharide fractions obtained by various means from haemolytic streptococci of serological groups *A* do *M*, filtrates of liquid cultures and aqueous extracts were investigated.

Later these investigations were extended to staphylococci from which analogical preparations were produced.

Red cells which were sensitised in these preparations were, depending upon the experimental conditions, either haemolysed or agglutinated by immune sera.

Polysaccharide solutions were prepared by three methods: 1) the method of acid extraction after Lancefield, 2) F u l l e r' s (1938) formamide method, and 3) the method described below.

After centrifuging and washing in physiological saline, the bacteria were added to a non-purified, concentrated actinomycetin-solution obtained from a culture of *Streptomyces albus* or *griseus* strains. The bacterial suspension was placed in a 50°C. water bath. After the lysis of bacteria was completed, $2^1/_2$ volumes of acid ethanol were added to the lysate (95 aliquots of ethanol + 5 aliquots of N HCl). The resulting sediment was discarded by centrifugation and 5 volumes of acetone were added to the supernatant. The sediment contained polysaccharides which were dissolved in physiological saline and neutralised with sodium bicarbonate.

Before sensitising red cells, the culture filtrates used were neutralised, passed through a Berkefeld filter and warmed for 30 min. at 60°C, to destroy the streptolysins.

To prepare aqueous extracts, thrice washed bacteria were used. Extraction lasted 10 minutes at a temperature 100°C.

Sensitisation of red blood cells. Two per cent of red blood cells from hen, sheep, rabbit and man (group *O*) were added to the above-described preparations. For haemolytic reactions sheep or rabbit erythrocytes were used. Erythrocytes suspended in the preparations were left for $1^1/_2$ — 2 hours at room temperature or at 37°C, and, subsequently, washed three times in physiological saline.

Haemagglutination and haemolysis reactions. In haemagglutination reactions aliquots of 0,5 ml of a 0.25 per cent suspension of sensitised red cells were added to each of a number of test tubes containing 0.5 ml of immune serum, in 1 : 40 — 1 : 5120 dilutions, per tube. Similarly, in haemolysis reactions, to 0.5 ml portions of analogically diluted serum, 0.1 ml of complement diluted 1 : 10 and 0.5 ml of 1 per cent sensitised red cells were added.

Immune sera. Antistreptococcal rabbit sera, produced by intravenous injections of haemolytic streptococcus suspensions, often contain no antibodies whatsoever, causing the agglutination of red cells sensitised in preparations from these micro-organisms. However, as a matter of exception, among a great number of sera, such antibodies of a high titer may be found.

Initially, such sera were used in our investigations; subsequently, however, we obtained immune sera from rabbits which received intravenous injections of sensitised sheep red cells. These sera were absorbed by non-sensitised red cells.

The haemagglutination reaction was also carried out with sera of healthy and sick persons; these were intended to establish whether there is a correlation between the level of antistreptolysin *O* and the antibodies for sensitised red cells.

Controls. The immune sera used in experiments were tested on nonsensitised red cells, and sensitised cells were tested with sera of normal rabbits and physiological saline.

In haemolysis reactions the immune sera were tested in the presence of complement on normal erythrocytes; sensitised red cells were tested in the presence of complement, physiological saline being used instead of immune serum.

RESULTS

Table I represents the results of haemagglutination and haemolysis of sheep erythrocytes which were sensitised in various preparations from the haemolytic streptococcus of group *A*.

The immune serum, used in this and subsequent experiments, was obtained from rabbits which were immunised with sheep erythrocytes sensitised in polysaccharide fraction; the latter was obtained by the enzymatic method from the group *C* haemolytic streptococcus. The serum was absorbed with normal sheep red cells until the antibodies for such cells disappeared completely.

Table I

Passive agglutination and haemolysis of sheep red cells sensitised in various preparations from the group *A* haemolytic streptococcus

Bierna aglutynacja i hemoliza baranich krwinek czerwonych, uczulonych różnymi preparatami otrzymanymi z paciorkowców hemolitycznych grupy *A*

Пассивная агглютинация и гемолиз бараних эритроцитов, сенсибилизированных с помощью разных препаратов полученных от гемолизирующих стрептококков группы *A*.

	Haemagglutination					Haemolysis					
	Dilution of serum					Diulution of serum					
	80	160	320	640	1280	80	160	320	640	1280	2560
Lancefield extract	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polysaccharide fraction after Fuller	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	2
Polysaccharide fraction obtained by the enzymatic method	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	3
Extract in H_2O at 100°C.	3	3	3	2	1	3	3	3	3	3	1
Culture filtrate	3	3	3	2	0	3	3	3	3	3	1

0 — no agglutination
3 — intensive agglutination
1 — slight agglutination

0 — no haemolysis
3 — complete haemolysis
1 — signs of haemolysis

It follows from the above mentioned experiments that all tested preparations, the Lancefield extracts excepted, are sensitising red cells.

Since the Lancefield extracts contain polysaccharide *C*, the results of the experiment suggest that the substance which is adsorbed on the

surfaces of red cells is not identical with polysaccharide *C*. This assumption is substantiated by a number of facts. It is well known that the polysaccharides *C* are specific for various serological groups of haemolytic streptococci; but, red cells, sensitised in the above mentioned preparations (Lancefield excepted) obtained from haemolytic streptococci of groups *B, C, D, E, F, K, L,* and *M,* are agglutinated or lysed by one and the same immune serum used in experiments recorded in table I, and so are red cells sensitised in preparations from group *A* streptococci.

This demonstrates that, contrarily to polysaccharides *C*, the substance adsorbed on the surfaces of red cells is common to all serological groups of haemolytic streptococci from *A* to *M*.

An analysis of antibodies from antistreptococcus immune sera also bears out differences between this substance and the polysaccharides *C*. This is illustrated by table II.

Table II

The contents of anti-*C* precipitin and agglutinin for sensitised red cells in rabbit antistreptococcal group sera

Zawartość precypityn anty-*C* i aglutynin, zlepiających uczulone krwinki, w króliczych surowicach przeciwpaciorkowcowych

Содержание преципитинов анти-*C* и агглютининов, склеивающих сенсибилизированные красные кровяные тельца в кроличьих противстрептококковых сыворотках.

Name of strain	Serological group	The highest dilution of erythrocyte agglutinating sera	Presence of anti-*C* precipitins
SF 130		80	+
D 58		—	+
95/RB5	*A*	160	+
Wheatley		—	+
Matthews		1280	+
K 64/0/8		320	+
C 4	*C*	—	+
Gaunt		40	+
F 68 A	*G*	—	+
Price		—	+

As follows from the data recorded in this table, anti-*C* precipitin is present in all the sera presented, while only some of the latter contain antibodies which cause the agglutination of sensitised red cells. The absence of correlation between the anti-*C* precipitins and the haemagglutinins also excludes the possibility of the polysaccharides C being identical with the substance adsorbed on the surfaces of red cells.

The presences of one common, erythrocyte-sensitising substance in all serological groups of haemolytic streptococci prompted us to explore also other Gram-positive cocci, namely the pneumococci, viridans cocci and staphylococci, with a view to finding this substance. In the first two of the above-mentioned groups of microorganisms we failed to establish the presence of such a substance with the aid of the methods which we used, but we were successful with the staphylococci and the substance adsorbed on the surfaces of red cells proved to be identical with the substance discovered earlier in the haemolytic streptococci.

The agglutination and lysis of sheep erythrocytes sensitised in various preparations obtained from staphylococci, analogically to the preparations obtained from streptococci and demonstrated in table I, are recorded in table III.

Table III

Passive agglutination and haemolysis of sheep red cells sensitised in various preparations from staphylococci

Bierna aglutynacja i hemoliza krwinek baranich uczulonych substancjami otrzymanymi z gronkowców

Пассивная агглютинация и гемолиз бараних эритроцитов, сенсибилизированных при помощи веществ, полученных от стафилококков.

	Haemagglutination					Haemolysis					
	Dilution of serum					Dilution of serum					
	80	160	320	640	1280	80	160	320	640	1280	2560
Lancefield extract	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Polysaccharide fraction after Fuller	3	3	3	3	2	3	3	3	3	3	1
Polysaccharide fraction obtained by the enzymatic method	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Extract in H_2O at 100°C	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	2
Culture filtrate	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3	1

0 — no agglutination
3 — intensive agglutination
1 — slight agglutination

0 — no haemolysis
3 — complete haemolysis
1 — signs of haemolysis

Analogically to experiment No. 1, the serum which we used was obtained from rabbits immunised with sensitised red cells suspended in

a solution of polysaccharide obtained from haemolytic streptococci of group *C*. Coagulase-positive and coagulase-negative staphylococci yield results identical with those recorded in tables I and III. This appears to leave no doubt as to the identity of the erythrocyte-sensitising substances obtained from staphylococci and haemolytic streptococci.

Since staphylococcus and streptococcus infections are fairly common in man, it was interesting to determine the level of antibodies for the discovered antigen in the sera of man, and to ascertain whether there is correlation between the level of such antibodies and the level of other antibodies which appear as a result of streptococcus infections, as for instance the level of antistreptolysin *O*.

These questions are answered by the results of experiments recorded in table IV, which represents only 10 out of 200 examined human sera.

Table IV

The level of agglutinins for sensitised red cells as compared to the level of antistreptolysin *O* in human sera

Porównanie miana aglutynin, zlepiających uczulone krwinki, z mianem antystreptolizyny *O* w surowicach ludzkich

Сопоставление титра агглютининов склеивающих сенсибилизированные эритроциты с титром антистрептолизина *O* в сыворотках людей.

No of serum	Diagnosis	Haemagglutinin titer	Antistreptolysin *O* titer
1	Rheumatic fever	128	450
2	,, ,,	32	580
3	,, ,,	64	875
4	,, ,,	128	1180
5	Scarlet fever	64	350
6	,, ,,	128	400
7	,, ,,	64	250
8	Healthy	64	110
9	,,	256	50
10	,,	128	100

As can be seen, the haemagglutinin level in the examined human sera proved to be low, and no correlation between the level of these antibodies and the level of antistreptolysin *O* was established.

Our experiments failed to produce results determining the chemical structure of the substance in question. We often successfully removed, *via* adsorption on activated carbon, polysaccharides *C* from polysaccharide fractions, obtaining solutions which sensitised red cells, but failed to indicate the presence of polysaccharide *C* in precipitation reactions with a homologous serum. However, the amounts of the substance

obtained in this way were too insignificant to permit chemical analysis; nor was there a reasonable amount of certainty that these substances did not contain residual quantities of polysaccharide *C* too small to be discovered by precipitation methods. Yet, some of the known qualities of the substance permit us to assume that it is not a protein. The protein nature is refuted by the following properties: relative heat-stability (15 minutes at 150°C without loss of biological properties), absence of positive protein tests, retention of biological properties after treatment with pepsin, trypsin and ribonuclease, and solubility in 70 per cent acid alcohol.

The substance in question does not pass through cellophane and is destroyed after 10 minutes heating at 100°C in 0.2 N hydrochloric acid.

The latter property explains why Lancefield extracts do not sensitise red cells, and proves again that the substance which is adsorbed on red cells differs from the polysaccharides *C*, which are not depolymerised in such weak acids by 10 minutes heating at 100°C.

DISCUSSION

K i r b y (1951) agglutinated red cells sensitised in polysaccharide fraction prepared by the Fuller method and in preparations of concentrated but non-purified streptolysin *O* with the aid of sera from streptococcus-infection patients. He was astonished to find that red cells sensitised in various preparations, one of which was a relatively pure solution of polysaccharide and another a solution of protein, were agglutinated to the same titer by the various sera examined. Kirby is probably right in supposing that the red cells from both preparations adsorb the very same substance. In his opinion, however, this substance is the polysaccharide *C*, which can be found in minute quantities in preparations of streptolysin *O*. We think that such a conclusion is wrong, because we have demonstrated that the substance *C* is not adsorbed on the surface of red cells.

H a r r i s and H a r r i s (1953) sensitised red cells in concentrates of culture filtrates, and tested the sera of scarlet fever and rheumatic fever patients for the presence of antibodies for sensitised red cells. Like Kirby, they failed to establish a correlation between the titer of such antibodies and streptococcus infections. The data reported by both authors confirm our observations.

Two years after we established that staphylococci and haemolytic streptococci have a substance in common, which is adsorbed on the surface of red cells, F r a s e r published (1954) a paper in which he reached the same conclusion. This author investigated, among others, preparations analogous to ours but reached his conclusion in a somewhat different way. He established, in 3 instances, that the sera of glandular fever patients agglutinate red cells sensitised in preparations from staphylococci and streptococci.

It is impossible of course to draw from Fraser's observations of three cases any conclusions as to the aetiology of glandular fever. But it is

almost certain that the substance which is adsorbed on the surfaces of red cells and described by Fraser is identical with that described by us.

Is it possible to draw conclusions as to the phylogeny of staphylococci and haemolytic streptococci on the evidence of a single substance common to both these groups of micro-organisms? The existence of one such substance does not provide a basis for such conclusions. However, we should like to draw attention to the fact that in 1953 S i m p s o n demonstrated also an antigenic similarity between the haemolysins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes.*

R. Pakuła i *W. Walczak*

O CZYNNIKU UCZULAJĄCYM CZERWONE KRWINKI, WSPÓLNYM DLA GRONKOWCÓW I HEMOLIZUJĄCYCH PACIORKOWCÓW

S t r e s z c z e n i e

Stwierdzono, iż we frakcjach wielocukrowych, otrzymanych z paciorkowców hemolizujących i gronkowców metodą Fullera oraz łagodną metodą przy zastosowaniu aktynomycetyny dla rozłożenia białek, obecny jest czynnik uczulający krwinki. Krwinki uczulone ulegają biernej aglutynacji pod wpływem odpowiednich surowic odpornościowych. Omawiany czynnik występuje u paciorkowców hemolizujących wszystkich grup serologicznych oraz u gronkowców i jest identyczny dla wszystkich wspomnianych drobnoustrojów. Jakkolwiek istota chemiczna tego czynnika nie została dokładnie zbadana to jednak szereg poznanych właściwości przemawia przeciw jego naturze białkowej. Badając poziom przeciwciał przeciw wspomnianemu czynnikowi w surowicach ludzi, nie stwierdzono żadnej korelacji między tym poziomem a mianem antystreptolizyny O.

Р. Пакула и В. Вальчак

ОБ ФАКТОРЕ СЕНСИБИЛИЗИРУЮЩЕМ КРАСНЫЕ КРОВЯНЫЕ ТЕЛЬЦА, ОБЩЕМ ДЛЯ СТАФИЛОКОККОВ И ГЕМОЛИЗИРУЮЩИХ СТРЕПТОКОККОВ

Р е з ю м е

Установлено, что во всех полисахаридных фракциях полученных из стафилококков и гемолизирующих стрептококков по методу Фуллера, а также с применением актиномицетина для разложения белковых веществ, присутствует фактор сенсибилизирующий эритроциты. Сенсибильные красные кровяные тельца подвергаются пассивной агглютинации под влиянием соответственных иммунных сывороток. Указанный выше фактор выступает у гемолизирующих стрептококков всех серологических групп, а также и у стафилококков и идентичен для всех упомянутых микроорганизмов.

Хотя химический состав этого фактора пока еще точно не изучен, но целый ряд уже известных его свойств говорит против его белковой природе. Наблюдая уровень антител против упомянутому фактору в сыворотках людей, не обнаружено никакой корреляции между этим уровнем и титром антистрептолизина О.

LITERATURE

1 Fraser K. B., 1954: Antibody in glandular fever sera to an antigen common to streptococci and staphylococci. *J. Pathol. Bact.*, **67**:301.
2. Fuller A. T., 1938: The formamide method for the extraction od polysaccharides from haemolytic sterptococci. *Brith. J. Exp. Path.*, **19**:130.
3. Harris T. N., Harris S., 1953: Agglutination by human sera of erythrocytes incubated with streptococcal culture concentrates. *J. Bact.*, **66**:159.
4 Keogh E. V., North E. A., Warburton M. E., 1947: Haemagglutinins of the *Haemophilus* Group. *Nature*, **160**:63.
5. Kirby W. M. M., 1951: Hemagglutination reaction in streptococcal infections and acute rheumatic fever. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, **78**:519.
6. Pakuła R., 1952: Różnorodność wielocukrów u paciorkowców hemolitycznych. *Med. Dośw. i Mikrob.*: 197.
7 Pakuła R., Walczak W., 1954: Hemoliza i aglutynacja krwinek uczulonych w preparatach z paciorkowców hemolizujących, pod wpływem odpornościowych surowic króliczych oraz surowic ludzkich. *Med. Dośw. i Mikr.*: 135.

B. Narbutowicz

BADANIA NAD ZMIENNOŚCIĄ JADOTWÓRCZOŚCI MACZUGOWCÓW BŁONICY POD WPŁYWEM FAGÓW

Z Zakładu Mikrobiologii Instytutu Matki i Dziecka w Warszawie
Wpłynęło dn. 24.VI.1955 r.

WSTĘP

Jadotwórczość maczugowców jest ze stanowiska lekarskiego zagadnieniem podstawowym w dziedzinie badań nad błonicą. Ścisła definicja bakterii Klebsa-Loefflera, ze względu na różnorodność morfologiczną kolonii drobnoustrojów a także typów biochemicznych i serologicznych, jest niezwykle trudna (M o r t o n, 1940). Jadotwórczość maczugowców wydawała się dotychczas najbardziej charakterystyczną cechą dzielącą je na dwie ściśle rozgraniczone grupy. Powszechnie został przyjęty pogląd Okela i Parisha (cyt. wg F r e e m a n, 1951), że nietoksyczne odmiany maczugowców błonicy można całkowicie pominąć przy rozpatrywaniu patogenezy i epidemiologii, gdyż nigdy ani *in vitro*, ani *in vivo* nie stają się one toksynogenne.

Związek między jadotwórczością maczugowców a obecnością bakteriofaga zauważył w 1926 roku d'Herelle.

Pisze on: „Il se pourrait meme, que le caractére toxique en ce qui concerne *B. diphtheriae*, soit lié a la présence d'un Bactériophage, qui provoquant la dissolution des corps bactériens mettrait la toxine en liberté: à trois riprises différentes, j'ai isolé des Bactériophages virulents pour des *B. diphtheriae* atoxiques, inactifs vis á vis des souches toxiques".

Twierdził on, że toksyczny charakter błonicy jest spowodowany obecnością bakteriofaga, który wywołując rozpad komórki uwalnia toksynę. Trzykrotnie wyizolował z jadowitych szczepów *C. diphtheriae* faga działającego na szczepy nietoksyczne. S t o n e i H o b b y (1934) zauważyły, że bakteriofagi adaptują się wyłącznie do niejadowitych lub słabo jadowitych odmian toksynogennych szczepów, wyizolowanych od chorych na błonicę. F r e e m a n (1951) opisał zmianę nietoksycznych szczepów maczugowców na jadotwórcze pod wpływem specyficznego bakteriofaga. Konsekwencją tego odkrycia jest potrzeba rewizji dotychczasowych poglądów na epidemiologię błonicy, genezę powstawania różnorodnych typów maczugowców i mechanizm wytwarzania toksyny.

F r e e m a n (1951) oraz F r e e m a n i M o r s e (1952) zbadali działanie fagów na kilkanaście szczepów. Tylko 5 z nich ulegało lizie

pod wpływem „faga B" i jednocześnie zmieniała się ich jądotwórczość. Cztery z tych szczepów (444, 1174 wyizolowane z jednego przypadku błonicy, 770, 1180 — z drugiego przypadku) należały do tej samej grupy serologicznej. Parson, Frobisher (1951) znaleźli 2 analogiczne szczepy na 12 badanych. Wyrażają oni pogląd, że hodowle otrzymane od chorych są bardziej podatne na działanie fagów niż otrzymane od nosicieli. Ci sami autorzy (1953) badając 44 nietoksyczne szczepy błonicy, otrzymali zmianę toksyczności tylko w ośmiu. Hewitt (1952a) otrzymał 12 szczepów podlegających zmianie jadotwórczości pod wpływem fagów uzyskanych z jadotwórczych maczugowców tej samej grupy serologicznej. Barksdale i Pappenheimer (1954) opisują szczep podlegający działaniu faga uwolnionego z hodowli *C. diphtheriae* Park Wiliams 8. Freeman (1951) oraz Parson i Frobisher (1951) zbadali toksyczność 607 kolonii otrzymanych z rozsiewu szczepów podlegających działaniu faga. Freeman, Morse (1952) zbadali 8 hodowli pochodzących z pojedynczych komórek szczepu 444 i 1180, wykluczając w ten sposób możliwość istnienia małej ilości toksynogennych osobników w wyjściowej populacji szczepów niejadotwórczych. Jednocześnie w specjalnym badaniu zawiesiny komórek wyjściowej hodowli, rozbitych w młynku wykluczyli oni możliwość istnienia toksyny wewnątrz komórek.

Freeman (1951) stosował faga B pochodzącego z Kanady (Tosshach, Toronto) i faga A z Australii (Ferris, Melburne). Fag B wywoływał całkowitą lizę szczepów wrażliwych, a fag A dawał tylko słabe przejaśnienie. Jadotwórczość szczepów pierwotnie niejadowitych występowała tylko pod wpływem faga B. Parson i Frobisher (1951) stwierdzili, że częste pasaże faga na wrażliwych szczepach zwiększają jego moc. Otrzymane przez nich lizaty faga A były równie toksyczne jak lizaty faga B.

Sprzeczną z powyższym doniesieniem obserwację podaje Groman (1953 a, b). Zauważył on, że fag B może całkowicie stracić swą zdolność indukowania toksyczności w czasie namnażania na wyjściowym szczepie 444. Przypuszcza on, że przyczyną tego zjawiska jest powstanie nowej odmiany faga o silniejszym działaniu litycznym i niezdolnej do wywołania lizogenności. W ostatniej pracy Groman (1955) donosi o zaadoptowaniu faga B do uprzednio opornych, lizogennych „nowojadotwórczych" szczepów. Barksdale i Pappenheimer (1954) stwierdzili, że otrzymany od Freemana fag B zawiera lityczny, zjadliwy (virulente) fag B i jego osłabioną (temperate) odmianę β. Fag B wywołuje kompletną lizę szczepów wskaźnikowych 444 i 770, fag β tylko przejaśnienie, ale właśnie on indukuje jadotwórczość i lizogenność. Fag β uwolniono metodą naświetlania promieniami pozafiołkowymi kolonii jadotwórczych otrzymanych przy działaniu faga B i opornych na niego. Przy namnażaniu faga β na szczepach wyjściowych, niejadowitych może nastąpić rewersja w kierunku zjadliwej odmiany B. Parson i Frobisher (1953) otrzymali z jadotwórczych szczepów sześć fagów działających na użyte jako wskaźniki szczepy niejadowite („Szczepy wskaźnikowe").

H e w i t t (1952 a) twierdzi, że lizogenność u jadotwórczych szczepów błonicy jest zjawiskiem powszechnym. Udało mu się na 8 badanych szczepów z pięciu uwolnić fagi metodą naświetlania promieniami pozafiołkowymi. Operując nadal tą metodą H e w i t t (1952 b) otrzymał 36 różnych fagów działających na 80 szczepów należących do 24 serologicznych typów. Działanie fagów jest specyficzne typowo, tj. wybiórczo ograniczone do obrębu jednego typu serologicznego, a nawet w obrębie jednego typu istnieje zróżnicowanie co do mocy działania na poszczególne szczepy. Fagi z grupy *gravis* nie działają na szczepy *intermedius* i *mitis*. P a r s o n i F r o b i s h e r o w i (1953) nie udało się nawet po 50 pasażach zaadoptować fagów Freemana do szczepów grupy *gravis*.

H e w i t t (1952 a) zaadoptował 3 fagi gronkowcowe do szczepów błonicy. Sugeruje on ogromne znaczenie epidemiologiczne tego odkrycia, w związku z dużym rozprzestrzenieniem *staphi*-fagów w jamie nosowo-gardzielowej. Próby zmiany jadotwórczości maczugowców przy pomocy tych fagów nie zostały jednak dotąd opisane.

H e w i t t (1952 b) określa wielkość fagów maczugowców błonicy na około 60 — 80 mμ. Należą one zatem do fagów dużych, łatwo adsorbujących się w czasie sączenia przez filtry. Tworzą małe łysinki o średnicy około 0,3 mm. Ulegają zniszczeniu w ciągu 30 minutowego ogrzewania w 55°. Maczugowce błonicy giną już po 30 minutach w 50°. Większą odporność fagów na temperaturę można więc wykorzystać do sterylizacji lizatów. Mimo to Hewitt zaleca sączenie przez błony gradokolowe. G r o m a n i L o c k a r t (1953) podają, że fagi Freemana inaktywują się bardzo szybko w lodówce (+ 4°). Fag A zachowuje po miesiącu 36% aktywności, fag B — 10%. Okres adsorpcji faga na bakteriach wynosi 60 — 65 minut. Jedna komórka lizogenna uwalnia 45 cząsteczek. Fag B Freemana należy do spermatoidopodobnych. K r i s s (1954) opisuje ziarnistą budowę ogonka tego faga.

Badaniem wtórnych kolonii powstałych pod wpływem działania faga zajął się F r e e m a n (1951). Na 156 badanych kolonii, wyizolowanych przy autopsji świnek padłych po podaniu lizatu szczepu wskaźnikowego 444 otrzymanego pod wpływem faga B, 129 czyli 70,1% było jadotwórczych. Na 61 kolonii wtórnych wyizolowanych bezpośrednio z lizatu — 53 czyli 86,9% było toksynogennych. Przy rozsianiu jednej jadowitej kolonii z tej grupy otrzymano 72 kolonie, przy czym wszystkie były jadotwórcze. Wszystkie kolonie toksynogenne badane metodą F i s k a (1942) na lizogenność uwalniały spontanicznie fagi, których nie można było odróżnić od faga B. Trzykrotny pasaż przez świnkę tych „nowojadotwórczych" szczepów nie zmniejszał ich toksyczności. Kolonie niejadowite wyizolowane z lizatów faga B były nadal wrażliwe na faga, nielizogenne i pod wpływem powtórnego działania faga zmieniały się w jadotwórcze. F r e e m a n i M o r s e (1952) opisali również szczep należący do tej samej grupy serologicznej co uprzednio przez nich badane, różniący się jednak tym, że był oporny na faga B, niejadowity i nielizogenny.

Charakter lizogenności szczepów wtórnych był przedmiotem badań tych samych autorów. Stosując pasaże na pożywkach z surowicą anty-

fagową, stwierdzili, że nie są to szczepy nosiciele (carrier strain) lecz kultury lizogenne.

Groman (1953), badając ilościowe stosunki zmienności pod wpływem fagów stwierdził, że w czasie pierwszego podziału (51 minut) 2,7% — 9,2% bakterii staje się jadotwórczych. W ciągu 30 minut inkubacji bakterii z fagiem w 37° — 0,1% — 4,9% komórek staje się toksycznych. Po 5—7 godzinach inkubacji bakterii z fagiem ponad 90% komórek szczepu wrażliwego ulega lizie. Jednak niejadowita, fagowrażliwa populacja nie ulega całkowitemu rozpadowi nawet w ciągu 24 godzin działania faga.

Narastanie toksyczności jest proporcjonalne do ilości działającego faga. Groman nie znalazł w końcowej populacji nietoksycznych, nielizogennych, fagoopornych odmian. Badanie kolonii wtórnych wykazało, że jadotwórczość jest skorelowana z lizogennością i opornością na faga w 94%. U 93% kolonii nietoksycznych nie udało się wykazać lizogenności, a komórki ich były wrażliwe na działanie oryginalnego faga.

Kolonie wtórne wytwarzają tylko 2,5 — 5 Lf w 1 ml., podczas gdy szczep P. W. 8 w tych samych warunkach wytwarza 60 — 80 Lf, a więc 16 razy więcej toksyny (Barksdale i Pappenheimer, 1954). Hewitt (1952) podaje, że szczepy uzjadliwione działaniem faga wytwarzają różne ilości toksyn, od 0,01 — do 4,0 jednostek w mililitrze. Zaobserwował on jednocześnie kolonie oporne na homologicznego faga — nietoksyczne i nielizogenne. Wrażliwość tych kolonii na inne fagi z tej samej grupy była różna.

Całokształt przytoczonych powyżej zjawisk tłumaczą cytowani autorzy dwojako:

1) jako objaw zmienności spontanicznej, w której fag gra jedynie rolę czynnika selekcjonującego,

2) jako przypadek zmienności indukowanej, w której czynnikiem wywołującym jest fag, uszkadzający trwale metabolizm drobnoustrojów i zmieniający go w kierunku jadotwórczości, a następnie działający selektywnie na populację atoksyczną.

W chwili obecnej Freeman (1951, 1952), Groman i Lockart (1953), Groman (1953), Parson i Frobisher (1953) przychylają się wraz z Barksdale i Pappenheimerem (1954) do tej drugiej koncepcji. Hewitt (1952, 1952a) jest zwolennikiem pierwszej.

BADANIA WŁASNE

MATERIAŁ I METODA

Badania przeprowadziłam na następujących szczepach *C. diphtheriae:* szczepy Freemana 1174, 444, 411, 1180, 770, pochodzące z kolekcji w Waszyngtonie *); szczep 25 wyizolowany w 1951 r. od chorego w pracowni diagnostycznej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie; szczepy własne 17 p, 12 p i 8 p jadotwórcze, lizogenne, oporne na dzia-

*) Otrzymane od Docent Dr I. Lipskiej ze Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Warszawie.

łanie faga B wyizolowane przeze mnie z lizatów szczepu 1174 otrzymanych przy działaniu faga B; szczepy 4/II 25, 1/II 25, 6/II 25, 8/II 25 wyizolowałam z wysięku świnki padłej po podaniu lizatu 1174 po działaniu faga 25; szczep 9/9, 9/10 wyizolowałam z wysięku świnki padłej po podaniu *in vivo* szczepu 1174 razem z fagiem B; szczepy 12/8, 12/10 pochodzą ze świnki padłej po podaniu szczepu 8 p.

Fag B Freemana pochodzi z kolekcji w Waszyngtonie, fag 25 uwolniłam metodą naświetlania szczepu 25 na podkładach ze szczepu Freemana.

Wszystkie eksperymenty przeprowadzałam początkowo na pożywce „Brain-Hearth Infusion Difco", a następnie na pożywce własnej. Skład pożywki:

1) Wyciąg z mózgu: 200 g mielonego, oczyszczonego mózgu, 300 ml wody destylowanej, wyjaławiane w autoklawie pod ciśnieniem jednej atmosfery przez 2 godziny.

2) Wyciąg z serca: 250 g mielonego, oczyszczonego serca, 800 ml wody destylowanej, jałowiono pod ciśnieniem jednej atmosfery przez 0,5 godziny.

Wyciągi przesączono przez watę i zmieszano: 800 ml wyciągu z serca z 200 ml wyciągu z mózgu. Z kolei na 1 litr pożywki dodano:

pepton —	20 g
NaCl	5 g
glukoza	2 g
Na_2HPO_4	2,5 g

1 M roztwór $CaCl_2$ — 1 ml.

Po zagotowaniu oznaczono pH 7,6 — 7,8, przesączono przez bibułę, jałowiono w autoklawie. Do płynnej pożywki dodano agaru 1,5% lub 0,6% i sączono przez watę. *) Hodowlę przechowywano na pożywce Loefflera. Szczepy z padłych świnek izolowano na pożywce Clauberga.

Rozkład węglowodanów oznaczano na pożywce Robensona z: 1) glukozą, 2) sacharozą, 3) skrobią. Surowicę antybakteryjną sporządzono metodą Ferris (1950). Odczyn aglutynacyjny probówkowy wykonywano techniką Ferris (1950). Fagi namnażano i konserwowano chloroformem wg Fredericq'a (1952 a, 1952 b). Miana fagów oznaczano systemem d'Herelle (wg Calmette i współpracownicy, 1948). Surowice antyfagowe otrzymano metodą Jerne i Skovsteda (1953). Próbę na jadowitość wykonywano wg Kolmera (1952). Antytoksyny w surowicy wykrywano systemem Jensena w modyfikacji Jakubkiewicz (1953). Lizaty sporządzono metodą Parson i Frobishera (1951) lub metodą Freemana (1951). Badanie lizogenności spontanicznej przeprowadzano wg Fiska (1942), badanie lizogenności indukowanej promieniami pozafiołkowymi sposobem Lwoffa, Simonowitcha i Kieldegaarda (1950) i He-

*) Pożywkę tę przygotowała asystentka techniczna K. Ruszczyk, za co jej w tym miejscu dziękuję.

witta (1953). Charakter ligozennego szczepu stwierdzono przez pasaże z surowicami antyfagowymi metodą Delbrücka podaną przez Freemana (1951).

WYNIKI

Przeprowadziłam kilkakrotnie eksperyment Freemana ze szczepem 1174 i fagiem B. Szczep 1174 nie wywoływał u zakażonych świnek objawów chorobowych, sam fag B także nie wykazywał działania toksycznego. Natomiast lizaty szczepu 1174 otrzymane pod wpływem faga B z reguły zabijały świnki. Na sekcji stwierdzałam wysięk galaretowaty w otrzewnej, powiększenie i przekrwienie, czasem wybroczyny w nadnerczu, niekiedy powiększenie i przekrwienie śledziony. Pół mililitra 24 godzinnej hodowli szczepu 1174 w temperaturze 37°, zmieszanej z fagiem B zabijało świnkę w ciągu 48 do 72 godzin. Wyizolowane z lizatów i z padłych świnek kolonie okazały się oporne na działanie faga B lecz niejadowite.

Wyniki moje były więc różne od wyników Freemana. Wobec tego zwiększyłam ilość badanych szczepów i zaczęłam obserwować korelację między jadowitością, lizogennością i fagoopornością.

Zauważyłam, że po 24 godzinnym działaniu faga B na szczep 1174 w bulionie w temperaturze 37° i po wysianiu materiału na płytkę metodą Parson (1951) około 50% kolonii nie wykazuje żadnych zmian wskazujących na obecność faga (np. nadgryzione kolonie motylkowe, lub kolonie z łysinkami). Kolonie te były wrażliwe na powtórne działanie faga. Ilość tych kolonii zmniejsza się znacznie jeżeli hodowlę z fagiem inkubować przez 48 godzin.

Z lizatów bulionowych sporządzonych metodą Parson, inkubowanych przez 48 godzin do 6 dni w temperaturze 37°; wyizolowałam 16 kolonii opornych na faga B. Tylko z jednej z tych 16 kolonii, pochodzącej z lizatu hodowanego przez 4 dni, otrzymano szczep słabowrażliwy na działanie faga B (pojedyncze łysinki). Szczep ten podany śródskórnie królikowi wywoływał nekrozę, a podany podskórnie zabijał świnkę na trzeci dzień. Zaledwie 6,25% kolonii opornych okazało się zatem toksycznych, podczas gdy Groman (1953a) i Freeman (1951, 1952) otrzymali w tych warunkach 100% kolonii toksycznych.

Chcąc przekonać się jakie zmiany zajdą po podaniu śwince bakterii razem z fagiem bezpośrednio *in vivo* bez uprzedniego działania bakteriofaga na hodowlę wrażliwą, wykonano następujące doświadczenie. Pierwszej śwince podano podskórnie 0,5 ml 24 godzinnej hodowli bulionowej szczepu 1174 i 0,5 ml faga B dożylnie. Świnka nie wykazała żadnych objawów chorobowych. Druga świnka otrzymała zastrzyk podskórny 0,5 ml 24 godzinnej hodowli szczepu 1174 i 2 ml faga *per os*. Także ta świnka nie zachorowała. Trzecia świnka otrzymała podskórnie 0,15 ml hodowli bulionowej szczepu 1174 rozcieńczonej w 1,5 ml bulionu. Tą samą igłą podano 0,15 ml faga B. Świnka padła na trzeci dzień ze zmianami typowymi dla działania jadu błoniczego. Z wysięku wyizolo-

Tabela I

Cechy szczepów świeżo utoksycznionych przy pomocy faga

Особенности штаммов после индукции токсикообразования при помощи фага

The characteristics of strains of *C. diphtheriae* induced by phage to the toxigenicity

Rubryki	1	2						3		
		Charakterystyka szczepu						Kolonie pochodne		
Nr szczepu	Pochodzenie	Śmierć świnki	Nekroza u świnki	Oporność na zastosowanego faga	Lizogenność	Typ serologiczny	Typ biochem.	Toksyczn. met. śród. Nekroza u świnki	Oporność na zastosowanego faga	Lizogenność
17p	z lizatu 1174 + fag B	+	+	+	+	25	*mitis*	0/10	10/10	10/0
12p	,,	+	+	+	+	,,	,,	0/9	10/10	0/0
8p	,,	+	+	+	+	,,	,,	2/0	10/10	0/0
12/8	ze szczepionej świnki 8p	0	-	-	+	,,	,,	0/0	10/10	0/10
12/10	,,	0	+	+	+	,,	,,	0/10	10/10	0/10
9/4	ze świnki po 1174 + fB *in vivo*	0	+	+	—	,,	,,	0/10	0/10	0/10
9/9	,,	0	+	+	—	,,	,,	0/10	0/10	0/10
1/II 25	ze świnki po lizacie 1174 + 25	0	+	-	—	,,	,,	0/10	0/10	0/10
4 II 25	,,	-	+	-	+	,,	,,	0/10	10/10	10/10

\+ oznacza cechę dodatnią

— cechę ujemną

0 — nie badano danej cechy

Licznik oznacza ilość kolonii dodatnich.

Mianownik ogólną ilość wyizolowanych kolonii.

Liczby w ramce oznaczają kolonie badane metodą rozsiewu.

Uwaga: Po dziesięciu pasażach szczepy 8p, 12p i 17p straciły jadowitość.

Szczep 17p po 2 miesiącach przechowywania na pożywce Loefflera utracił jadowitość i lizogenność.

Lizogenność szczepów 9/4, 9/10 była oznaczana w 2 miesiące po wyizolowaniu szczepu; w tym czasie lizogenność szczepów 12/8, 12/10 utrzymała się.

Lizogenność szczepów 1 II 25 i 4 II 25 była sprawdzana w 10 dni po izolacji szczepu.

Badanie rozsiewów szczepów 9/4, 9/10 wykonano w 2 miesiące po wyizolowaniu szczepu.

Badanie rozsiewów szczepów 1/II 25, 4/II 25 w 20 dni po wykonaniu próby na toksyczność.

wano 10 kolonii. Wszystkie kolonie dały szczepy oporne na działanie faga B. Tylko dwa z nich (9/4 i 9/9) czyli 20% były toksyczne. Oba należały do grupy biochemicznej *mitis* i do typu serologicznego 1174. Z wysięku drugiej świnki szczepionej tą samą metodą wyizolowałam tylko dwie kolonie. Obie były niejadowite, jedna z nich wrażliwa, a druga oporna na faga.

Celem zwiększenia odsetku kolonii jadotwórczych postanowiłam zastosować metodę wielokrotnego traktowania fagiem B niejadowitych kolonii opornych. Lizat szczepu 1174 otrzymany pod wpływem działania faga B * w ciągu 24 godzin w temperaturze 37° wysiałam na 5 płytek tak by otrzymać pojedyncze kolonie. Po 48 godzinnej hodowli w temperaturze 37° wyizolowałam 50 kolonii nieuszkodzonych działaniem faga. Wszystkie te kolonie były serologicznie i biochemicznie identyczne ze szczepem 1174, różniły się zaś od niego jedynie opornością na faga. (Należy zaznaczyć, że lizat, z którego izolowano opisane powyżej kolonie zastrzyknięty w ilości 0,5 ml podskórnie i 0,2 ml śródskórnie nie wywołał żadnych objawów chorobowych u świnki).

Materiał z tych kolonii posiałam na bulionie. Po 24 godzinnej hodowli przeniesiono je na płytki i poddano działaniu faga B. Szczepy okazały się oporne. Kolonie wyrosłe w środku kropli, a więc w miejscu działania faga, przesiewano na bulion, by następnego dnia znów poddać je działaniu faga. Procedurę tę powtarzano 10 razy, a następnie zbadano metodą śródskórną toksyczność wszystkich 50 szczepów. Trzynaście ze szczepów wywołało nekrozę u świnki, tylko trzy: 12 p, 8 p, 17 p, zabiły świnki po 2—3 dniach. Zmiany anatomopatologiczne były charakterystyczne dla błonicy. Wszystkie 3 szczepy zabijające świnki uwalniały spontanicznie fagi działające na szczep 1174. Metodą pięciokrotnego pasażu szczepu 12 p na bulionie z surowicą „antyfag B" stwierdzono, że jest to szczep lizogenny, a nie nosiciel. Sprawdzono też czy 13 wspomnianych szczepów wytwarza toksyny przed pasażowaniem, bezpośrednio po wyizolowaniu z lizatu. Próba śródskórna na śwince wypadła ujemnie. Podałam podskórnie jednej śwince 24 godzinną hodowlę jednego ze szczepów trwale nietoksycznych z pośród badanych 50, a drugiej taką samą hodowlę szczepu słabo toksycznego wraz z fagiem B. Żadna świnka nie zachorowała.

Wydawało się zatem, że wielokrotne działanie fagiem B na kolonie oporne zwiększa ich toksyczność. Przypuszczam, że kolonie jadowite oporne na faga B są populacją niejednolitą, składającą się z bakterii o różnej jadotwórczości i wrażliwości na faga. Przemawia za tym następująca obserwacja: Z 30 kolonii wyizolowanych ze świnek padłych po podaniu świeżo „utoksycznionych" szczepów 12 p, 17 p, i 8 p tylko dwie (12/8 i 12/10) zachowały charakter toksyczny. W dalszym rozsiewie tych dwu kultur na 20 pochodnych szczepów żaden nie był jadowity (Patrz tabela I). Po dziewięciu codziennych pasażach na pożywce Loefflera szczepy 12 p, 8 p i 17 p całkowicie utraciły zdolność jadotwórczą.

*) Fag B użyty w tym eksperymencie był przechowywany 6 tygodni w lodówce w temperaturze + 4°.

Szczep 17 p utracił cechę lizogenności i jadotwórczości po dwumiesięcznym przechowywaniu. Jedynie szczep 12 p nieprzesiewany w ciągu 8 miesięcy utrzymał wszystkie cechy niezmienione.

Wszystkie 50 szczepów po dziesięciokrotnym działaniu fagiem B na kolonie oporne, zachowały cechy biochemiczne i serologiczne wyjściowej kultury 1174, niejadowitej, nielizogennej i wrażliwej na faga B.

Próbowałam również, stosując dziesięciokrotne namnażanie, zaadoptować faga B do 38 szczepów należących do 5 występujących w Polsce typów serologicznych. Udało się to tylko w jednym przypadku. Fag zaadaptował się do jadotwórczego szczepu z typu 25 *mitis* (Patrz tabela I). Szczep ten wyizolowano w 1951 r. w pracowni diagnostycznej Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie. Trzeba zaznaczyć, że należy on do tego samego typu serologicznego, co szczepy Freemana *).

Tabela II

Próby adaptacji faga B metodą namnażań do 38 szczepów *C. diphtheriae* jadowitych i niejadowitych

Адаптация фага В к 38 ядовитым и неядовитым штаммам *C. diphtheriae*.

The adaptation of the bacteriophage B to 38 toxigenic and nontoxigenic strains of *C. diphtheriae*

Ilość szczepów według typów serologicznych					Ilość szczepów wg grup biochemicznych	
Typ 24	Typ 49	Typ 25	Typ 65	Typ 54	*mitis*	*gravis*
24( )	4( )	1(+)	1(-)	4(-)	10(-) 1(+)	27( )

Uwaga: 4 szczepy z grupy *mitis* nie zostały zaszeregowane do żadnego z występujących w Polsce typów serologicznych. Na 27 szczepów z grupy *gravis* było 20 jadotwórczych. Na 11 szczepów grupy *mitis* 6 było jadotwórczych. Fag *B* udało się zaadaptować tylko do jednego toksycznego szczepu typu „25" *mitis* identycznego z typem serologicznym szczepów Freemana.

Na ogólną ilość 21 szczepów badanych w kierunku lizogenności metodą naświetlań promieniami pozafiołkowymi wg Lwoffa (Patrz tabela III) i 100 szczepów badanych metodą Fiska (Tabela IV) — udało się uwolnić faga tylko ze szczepu 25 pod wpływem indukcji promieniami pozafiołkowymi. Szczep ten niekiedy uwalniał spontanicznie faga działającego na wskaźnikowe szczepy Freemana. Metodą pasażu z surowicą „anty-fag 25" stwierdzono, że szczep ten należy do szczepów lizogennych tak jak oznaczony uprzednio szczep 12 p. Własności jadotwórczego szczepu

*) Grunwald i Kawecka w pracowni serologicznej naszego Zakładu stwierdziły, że typ ten jest w Polsce słabo reprezentowany. Na 560 zbadanych szczepów tylko 13 należało do typu 25. Z tych do grupy *mitis* należy 10 szczepów, do *gravis* 3 (Praca dotąd nieopublikowana).

Tabela III

Badanie lizogenności *C. diphtheriae* metodą naświetlań promieniami pozafiołkowymi.

Исследования над лизогенностью *C. diphtheriae* методом облучения при помощи ультрафиолетовых лучей

The induction of lysogenicity in *C. diphtheriae* by U. V. radiation

Typ serologiczny	Szczepy badane						Szczepy wskaźnikowe odpowiednich typów			
	Ilość ogólna	Typ *mitis*	Typ *gravis*	w tym toksycznych	Czas naświetlania	Ilość udanych induk.	Ilość ogólna	Typ *mitis*	Typ *gravis*	w tym toksycznych
25	8	8	0	1	0″, 8″, 10″	1	5	5	0	1
24	10	0	10	10	0″, 8″, 6″ 10″, 12″, 15″, 20″	0	1	0	1	0
49	2	0	2	2	,,	0	2	0	2	0
54	1	0	1	1	,,	0	1	1	0	0

Objaśnienie: liczby oznaczają ilość szczepów w grupie.

Tabela IV

Badania lizogenności typów serologicznych 24, 49, 54 i 25 *C. diphtheriae* metodą Fiska

Исследования над лизогенностью серологических типов 24, 49, 54 и 25 *C. diphtheriae* по методу Фиска

The lysogenicity of *C. diphtheriae*, serological types 24, 49, 54 and 25 by the Fisk's method

L. p.	Ilość szczepów	W tym toksycznych	Biochemiczne typy	Wynik
1	24	17 + 7 —	9 *mitis* 15 *gravis*	—
2	24	17 + 7 —	5 *mitis* 19 *gravis*	—
3	24	20 + 4 —	3 *mitis* 21 *gravis*	—
4	28	17 + 5 — 6 ?	28 *mitis*	—

25 i niejadotwórczego szczepu 1174 porównałam w tabeli V. Szczepy różnią się stopniem wrażliwości na faga B poszczególnych komórek. Tylko szczep jadowity jest lizogenny. Fag uwolniony z toksycznego szczepu „25" działa na atoksyczną kulturę 1174. Różnice między fagiem

Tabela V

Porównanie właściwości szczepów *C. diphtheriae* 25 i 1174

Сопоставление свойств штаммов *C. diphtheriae* 25 и 1174

Characteristics of *C. diphtheriae* strain 1174 (Freeman) and strain 25 (isolated in Warsaw)

Szczep	Typ biochemiczny	Grupa serologiczna	Wrażliwość na fagi			Lizogenność spontaniczna wg Fiska	Lizogenność indukowana promieniami pozafiołkowymi	Toksyczność przed działaniem faga	Toksyczność po działaniu faga B i 25
			B	B/25	25				
1174 Freemana	*mitis*	25	(+) 50/50	(+) 50/50	(+) 50/50	(−) 0/10	(−) 0/10	(−) 0/5	(+) xx 13/16
Szczep 25	*mitis*	25	(+) 61/113	(+) 50/50	(−) 0/105	(±)x 27/105	(+) 50/50	(+) 53/53	Nie badano xxx

Licznik oznacza ilość dodatnich eksperymentów
Mianownik — ilość badanych kolonii

Uwaga: *) Szczep 25 daje czasem pojedyncze łysinki

**) Dwa ujemne eksperymenty ze szczepem 1174 — fagiem B i 25 otrzymano przy podaniu śwince *in vivo* — zbyt małych ilości szczepu i faga (0,05 + 0,05 ml). Jeden eksperyment odnosi się do 48 godzinnego lizatu szczepu 1174 + fag B, który w ilości 0,5 ml podawany podskórnie nie zabił świnki.

***) po 48 godzinach działania metodą Parson faga $B/_{25}$ na szczep 25 większość wysianych na płytkę osobników była zakażona przez faga. Na wyizolowanych 20 nienadgryzionych kolonii wszystkie okazały się dalej wrażliwe na faga $B/_{25}$.

B a 25 (patrz Tabela VI, VII, VIII) polegają jedynie na działaniu litycznym na szczep 25, który jest całkowicie oporny na uwolnionego przez siebie faga. Otrzymany przeze mnie fag 25 ma bardzo słabe miana. Próby otrzymania odmiany faga aktywnej w stosunku do szczepu z którego został uwolniony nie wykonano. Zmienność jadotwórczości szczepów Freemanowskich wywołana przez faga B i 25 jest taka sama (Patrz tabela I).

Jadotwórczość nabyta wydaje się być cechą nieustaloną, łatwo zanikającą. Oporność na faga, jak się wydaje, jest bardziej stała. Tylko dwa szczepy (9/4 i 9/9) po 2 miesiącach przechowywania na pożywce Loefflera odzyskały wyjściową wrażliwość na zastosowanego faga. Fag 25 utoksyczniając szczep nie wywołuje jednoczesnej rezystencji wszyst-

kich osobników. Większość populacji pozostaje wrażliwa (patrz Tabela I: szczep 4/II 25, 1/II 25). Pod działaniem faga B i 25 powstają więc osobniki o różnej wrażliwości na fagi. (Zestawienie wyników w tabeli IX). Doświadczenie ilustrujące to wykonywano metodą Parson. 48-godzinne

Tabela VI

Porównanie fagów B i 25.

Сопоставление фагов B и 25

Characteristics of the corynebacteriophages strain B (Freeman) and strain 25 (obtained from *C. diphteriae*, strain 25)

Rubryki	I	II					III	IV	V	VI
Fag	Pochodzenie	Lityczne działanie na szczepy z grupy serologicznej 25					Toksyczność przesączu fagowego po 24 godz.	Toksyczność miesięcznych lizatów fagów ze szczepów pierwotnie niejadotwórczych	Toksyczność kolonii opornych wyizolowanych z autopsji	Toksyczność kolonii opornych na faga wyizolowanych z lizatów
		1174	444	770	1180	25				
B	Od Freemana	50/50 (+)	8/2 (+)	3/3 (+)	3/3 (+)	61/113 (±)	0/4 (−)	12/13 (+)	4/41 (+)	14/66 (+)
25	Uwolniony indukcją UV ze szczepu 25	50/50 (+)	2/2 (+)	3/3 (+)	3/3 (+)	0/105 (−)	0/1 (−)	4/4 (+)	7/17 (+)	0/10 (−)

W rubryce III i IV-tej licznik oznacza ilość eksperymentów dodatnich, mianownik ogólną ilość eksperymentów.

W rubryce II licznik oznacza ilość kolonii wrażliwych na faga, mianownik ogólną ilość kolonii badanych.

W rubryce V i VI licznik oznacza ilość kolonii toksycznych — mianownik ogólną liczbę badanych opornych na faga kolonii.

Toksyczność badano metodą śródskórną.

lizaty bulionowe wysiewano na płytki, z których po 2 dniach wzrostu w temperaturze 37° izolowano tylko nienadgryzione, „niemotylkowe" kolonie. Równocześnie działano obu fagami wysiewając lizaty faga 25 na płytki polane uprzednio zawiesiną faga B. Na 55 zbadanych kolonii 44 okazało się oporne na oba fagi, z czego 20 powstało pod wpływem równoczesnego działania fagów B i 25. Tylko jedna kultura z lizatu 1174 — fag B okazała się wrażliwa na oba fagi. Sześć kolonii było opornych na fag działający (fag 25) lecz wrażliwych na faga B. Z lizatów faga B wyizolowano 4 kolonie wrażliwe na faga B — a oporne na faga 25. W populacji *C. diphtheriae* szczep 1174 nie stwierdzono osobników

Tabela VII

Wrażliwość 9 szczepów z grupy serologicznej 25 na fagi

Чувствительность 9 штаммов из серологической группы 25 к фагам

Susceptibility of 9 strains of *C. diphtheriae* (serological type 25) to three tested phages (B, B/25 and 25)

Szczepy	FAGI		
	B	B/25	25
444	+++	+++	+++
1174	+++	+++	+++
1180	+++	+++	+++
770	+++	+++	+++
411″	0	0	0
25	±	+++	0
333	0	0	0
794	0	0	0
800	0	0	0

Objaśnienia:

Fagi nakraplano na szczepy wskazane w I-szej kolumnie.
Stopień wyjaśnienia oznaczono w następujący sposób:

0 — brak przejaśnienia
± — pojedyncze łysinki
+ — przejaśnienie
++ — silniejsze przejaśnienie
+++ — całkowita liza

Szczep 411 (kontrolny szczep Freemana) niewrażliwy na faga B należy do innej grupy serologicznej niż pozostałe.

Tabela VIII

Miana fagów B, 25 i B/25 na szczepach wskaźnikowych

Титр фагов B, 25 и B/25 на стандартных штаммах

The titer of the phages B, 25 and B/25 obtained in the cultures of 5 test-strains

Szczep	Fag B	Fag 25	Fag B/25
25	1 : 1	0	1 : 10 000
444	1 : 1000	1 : 10	1 : 1000
770	1 : 1000	1 : 10	1 : 1000
1174	1 : 1000	1 : 10	1 : 1000
1180	1 : 1000	1 : 10	1 : 1000

Miano fagów określono jako największe rozcieńczenie dające całkowitą lizę. Odczyt po 24 h.

opornych na faga 25 wśród 100 badanych w tym kierunku kolonii. Oporność ta więc powstała jako reakcja na zetknięcie z fagiem B.

Fag B i 25 prawdopodobnie są bardzo podobne, skoro działanie jednego może wywołać powstawanie oporności na drugi. Utrata receptora na

Tabela IX

Różnica działania faga B i 25. Wrażliwość kolonii wtórnych z lizatów *C. diphtheriae*

Различия в действии фагов B и 25. Чувствительность вторичных колоний, выделенных из лизатов *C. diphtheriae*.

Induction by phages B and 25 of phage-resistance in *C. diphtheriae* strains 1174 and 444 as measured by the number of resistant colonies in the secondary growth from phage-lysates

Rodzaje kolonii	I	II	III	IV
Fagi działające	Oporne na oba fagi	Wrażliwe na oba fagi	Oporne na faga działającego, wrażliwe na niedziałającego	Wrażliwe na faga działającego, oporne na niedziałającego
B	13/20	1/20	2/20	4/20
25	11/15	0/15	4/25	0/15
25 + B	20/20	0/20		

Objaśnienia: We wszystkich rubrykach mianownik oznacza ogólną ilość badanych kolonii. 2 kolonie z grupy czwartej badane na toksyczność i 9 kolonii z grupy pierwszej nie wywołały nekrozy u świnki.

fag 25 zachodzi łatwiej i może pojawić się pod wpływem faga B wówczas, gdy całkowita utrata receptorów dla faga B jeszcze nie nastąpiła. Komórka wrażliwa na faga 25 nie może więc być oporną na fag B. Badanie fagów B i 25 na pożywkach z dodatkiem surowicy antyfagowej nie wykazało znamiennych różnic serologicznych między obu fagami. Dokładne porównanie obu fagów wymaga subtelniejszych metod ilościowych i zostanie uwzględnione w następnej pracy.

Zestawienie ośmiu możliwych kombinacji jadotwórczości, lizogenności i oporności na faga w tabeli X wykazuje, że nie ma ścisłej korelacji między tymi cechami. Niejadowite szczepy Freemana są rzeczywiście nielizogenne i wrażliwe na działanie fagów. Szczepy jadotwórcze są lizogenne i w większości oporne na własnego faga. Ogromna grupa szczepów opornych nie jest jednak lizogenna i nie wydziela jadu. U osobników pochodzących z „nowojadotwórczych kolonii" cecha toksynogenności w czasie pasaży łatwo zanika. Zanik jednej cechy nie koreluje z natychmiastową utratą innych cech nabytych przez komórkę po zetknięciu z fagiem. Obraz reakcji komórek drobnoustrojów na

zetknięcie z fagiem jest bardzo różnorodny i skomplikowany. Nie wiemy dotąd jakie czynniki wpływają na otrzymanie tych lub innych cech.

Tabela X

Korelacja cech: 1) wrażliwość na fagi B i 25, 2) lizogenność, 3) jadotwórczość 8 szczepów błonicy z grupy serologicznej 25 i 137 szczepów otrzymanych przez działanie faga B lub 25 na niektóre z nich

Корреляция свойств 8 штаммов *C. diphtheriae*. серологического типа 25 и 137 штаммов полученых после действия фагом B и 25: 1) чувствельность к фагам B и „25", 2) лизогенность, 3) токсино-образование

Observed correlation of the following characteristics of 8 *C. diphtheriae* strains, serological type 25 and 137 strains obtained after the action of phages B and 25 on some of above mentined strains: 1) susceptibility to phages B and 25, 2) lysogenicity, 3) toxigenicity

Numer kombinacji	Toksyczność	Oporność na fagi B lub 25	Lizogenność	Ilość szczepów	Numery szczepów
1	—	—	—	4	1174 444 770 1180 Szczepy Freemana
2	—	+	—	112	333 z przypad. chorob. 794 i 109 z lizatów 800 po działaniu faga
3	—	+	+	10	rozsiew 4/II 25
4	—	—	+	9	rozsiew 1/II 25
5	+	+	+	5	12 p 12/8 17 p 12/10 8 p
6	+	+	—	1	6/II 25
7	+	—	+	2	25 4/II 25
8	+	—	—	2	8/II 25 1/II 25

Uwaga: Kombinacje 3 i 7: Szczep toksyczny 4/II 25 wyjściowy był wrażliwy na 3 fagi. Rozsiew 10 kolonii — wszystkie oporne na faga 25. Szczep 25 jest wrażliwy na fag B — oporny na 25.

Kombinacje 4 i 8: Szczep 1/II 25 wyjściowy był nielizogenny. — 9 rozsianych kolonii dało łysinki na szczepach wskaźnikowych. Fagów nie namnażano.

Szczegółowe zbadanie zmienności *C. diphtheriae*, wywołanej działaniem fagów, przyniesie zapewne wiele nowych nieobjętych tą pracą faktów, które przyczynią się do wyjaśnienia przyczyn tego skomplikowanego systemu.

WNIOSKI — DYSKUSJA

Freeman (1951), Parson i Frobisher (1951), Freeman i Morse (1952) stwierdzili, że szczepy niejadotwórcze nie zawierają domieszki komórek toksynogennych. Doświadczenia Gromana (1953 a, 1953 b) opracowane statystycznie przemawiają przeciwko zmienności spontanicznej. Wykazany przeze mnie brak antytoksyn w surowicy królika uodpornionego dużymi dawkami zabitego i żywego szczepu 1174 potwierdza powyższe wnioski. Wydaje się, że jedyną hipotezą możliwą do przyjęcia jest koncepcja zmienności indukowanej przez bakteriofaga, który modyfikuje metabolizm komórki czyniąc ją zdolną do wytwarzania jadu, a następnie usuwa wrażliwe osobniki.

Charakterystyka populacji powstałej po zetknięciu z fagiem jest różna u różnych autorów. Freeman (1951), Freeman i Morse (1952), Groman (1953 a) otrzymali 70% kolonii jadotwórczych, lizogennych i opornych na działanie faga. Pozostałe 30% zachowało cechy populacji wyjściowej. Barksdale i Pappenheimer (1954) pod wpływem osłabionej odmiany faga B nazwanej przez nich β otrzymali 100% kolonii toksynogennych.

Hewitt (1952 b) omawia nowy typ bakterii niejadotwórczych nielizogennych, opornych na faga. Ten właśnie rodzaj bakterii występuje w naszych badaniach w przeważającej liczbie.

Z pracy Freemana i Morse (1952) wynika, że jadotwórczość, lizogenność i oporność na faga są cechami stałymi utrzymującymi się w czasie rozsiewów i pasaży badanych hodowli. W naszej pracy zaobserwowaliśmy utratę jadotwórczości u 3 szczepów po 9 pasażach na pożywce Loefflera. Szczep przechowywany na pożywce Loefflera w ciągu 2 miesięcy tracił toksyczność i lizogenność.

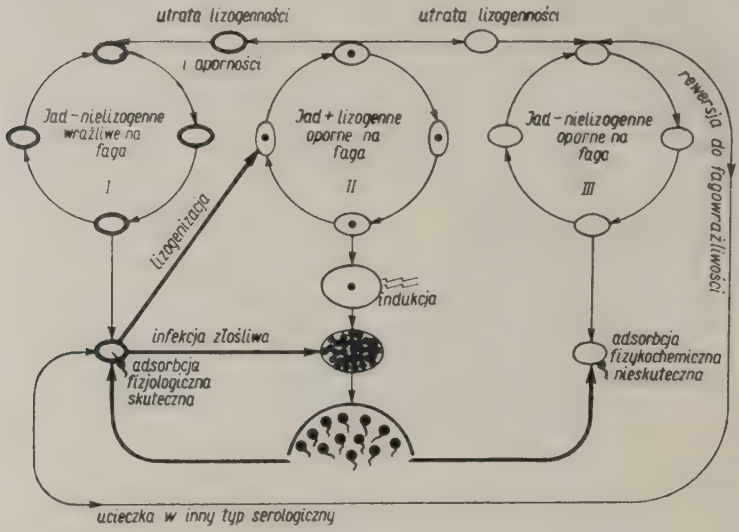
Rozsiewy kolonii jadotwórczych otrzymanych z padłych świnek dawały przeważającą liczbę potomnych kolonii nietoksycznych.

Stwierdziłam, że toksyczność szczepu nie koreluje z opornością na faga indukującego.

Kolonie wtórne mogą mieć różną wrażliwość na fagi tej samej serologicznej grupy. Badany przez nas szczep 25 *mitis* jadowity należy do tej samej grupy serologicznej co szczep Freemana. Uwolniony z niego fag różni się od faga B, na który szczep ten jest nieco wrażliwy. Tego typu szczepów w grupie *mitis* nie opisuje żaden z dotychczasowych badaczy (Freeman (1951), Freeman i Morse (1952), Hewitt (1952 b), Parson i Frobisher (1951), Parson i Frobisher (1953)). Hewitt (1952 b) obserwował w grupie *gravis* i wśród wtórnych kolonii *mitis* różną wrażliwość szczepów na fagi z tej samej grupy serologicznej. Obserwacja moja potwierdza podkreślaną przez niego koncepcję, że fagi mogą być użyte do różnicowania podtypów w obrębie typów serologicznych *C. diphtheriae*.

Różnica wyników moich badań i innych autorów wymaga wyjaśnienia. Charakterystyka czynnika indukującego zmienność maczugowców błonicy jest zagadnieniem podstawowym. Barksdale i Pappenheimer (1954) otrzymali, jak już wspomniano, osła-

bioną odmianę faga B — formę β. Właśnie forma β wnikając do zakażonej komórki indukuje wytwarzanie jadu. Namnażanie faga na szczepie wrażliwym powoduje przeskoczenie w typ zjadliwy, posiadający włas-



Rys. 1. Stosunek fag — bakteria w grupie maczugowców błonicy.

Рис. 1. Взаимоотношение фага и бактериальной клетки в группе *Corynebacterium*.

Fig. 1. Postulated relationships between bacteriophage and bacterial cell in *Corynebacterium*-group.

Objaśnienia: Komórka z grubą obwódką oznacza szczep wrażliwy na faga,
komórka z cienką obwódką oznacza szczep odporny na działanie faga
komórka z punktem w środku oznacza szczep lizogenny.
punkt oznacza profaga
główka z ogonkiem oznacza bakteriofaga.

ności lityczne. G r o m a n (1953) stwierdził zanik indukujących zdolności faga B w czasie namnażania go na szczepach wrażliwych. Podobne formy faga opisali w innych grupach drobnoustrojów B u r n e t i L u s h (1935), G r a t i a (1936), N o r t h r o p (1953), B e r t a n i (1953) (wg B a r k s d a l e i P a p p e n h e i m e r, 1954). B e r t a n i (1951) i J a c o b (1952) zauważyli, że spontaniczne uwalnianie osłabionej odmiany faga jest intensywniejsze niż zjadliwej (wg L w o f f, 1953).

Fag B użyty przez nas był namnażany wielokrotnie na szczepach wrażliwych. Fag 25, po uwolnieniu z hodowli bakteryjnej, miał bardzo niskie miana i działał słabo na szczepy wskaźnikowe. Namnażano go

analogicznie jak fag B. Przy zwiększeniu miana i adaptacji do odmian wrażliwych forma indukująca faga musiała stopniowo przechodzić w formę zjadliwą.

Zmienności jadotwórczości maczugowców błonicy nie należy rozpatrywać w oderwaniu od całokształtu badań nad zjawiskiem lizogenności. Szereg warunków zewnętrznych działa na proces zakażania komórki przez faga, niezależnie od formy w jakiej występuje fag.

W o l m a n (nieopublikowane, cytowane wg L w o f f a 1953) podkreśla znaczenie stanu fizjologicznego w jakim się znajdują drobnoustroje w czasie lizogenizacji. W tym samym szczepie proporcja zdolnych do indukcji bakterii waha się od 0% — 100%. B e r t a n i (1953) i L i e b (1953) stwierdzili, że hodowla w niższej temperaturze powoduje większą skłonność do lizogenizacji, wyższa zaś temperatura sprzyja rozwojowi procesu litycznego. B o y d (1953) zwrócił uwagę na stosunek ilości działającego bakteriofaga do komórek wrażliwych. Nadmiar faga wywołuje lizogenizację — niedomiar — lizę. Zbadano też wpływ szeregu substancji chemicznych na ten proces.

L w o f f (1953) obserwował silniejszą selekcję odmian na pożywkach, na których szansa przeżycia faga jest mniejsza, a adsorbcja zła. Przykładem takiej pożywki jest używana przez nas do pasaży i przechowywania szczepów pożywka Loefflera.

Ten krótki przegląd czynników wpływających na proces lizogenności podkreśla niedoskonałość obrazu wyłaniającego się z dotychczasowych badań nad zmiennością maczugowców błonicy pod wpływem bakteriofagów. Tym niemniej dotychczasowe prace pozwalają na schematyczne zobrazowanie stosunków zachodzących między fagami a komórką bakteryjną *C. diphtheriae*. Ilustrująca to tabela X została opracowana w oparciu o ogólny schemat lizogenności (L w o f f, 1953).

W ostatniej pracy G r o m a n (1955) opisuje faga mającego zdolność indukowania lizogenności bez utoksyczniania szczepu. Ten typ zmienności nie został umieszczony w tabeli.

Zmienność maczugowców pod wpływem fagów zaobserwowano dotychczas jedynie u typu *mitis C. diphtheriae* (F r e e m a n, 1951, F r e e m a n i M o r s e 1952, H e w i t t 1952 b, P a r s o n i F r o b i s h e r 1951, P a r s o n i F r o b i s h e r 1953). Możnaby sądzić zatem, że grupa ta jako bardziej plastyczna jest filogenetycznie młodsza niż typ *gravis*.

Б. Нарбутович

ИССЛЕДОВАНИЯ НАД ИЗМЕНЧИВОСТЬЮ ЯДООБРАЗОВАНИЯ *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE* ПОД ВЛИЯНИЕМ ФАГОВ

Резюме

Статья содержит подтверждение исследований Фримана, дополненных методом превращания неядовитых штаммов в ядовитые под влиянием бактериофага непосредственно на морской свинке без применения какой-либо питательной

среды. Исследования вторичных колоний невосприимчивых к примененному фагу, привело к результатам значительно отличающимся от наблюдений англо-саксонских авторов. Представленные ими три возможных комбинаций корреляции ядообразования, лизогенности и фагоустойчивости были пополнены еще пятью дальнейшими комбинациями.

Различия в результатах автор объясняет превращением самого фага в более ослабленную форму (temperate), вызывающую йзменения в зараженных клетках а также в ядовитую форму (virulente), действующую литически на штамм. Соотношение этих двух форм в взвеси фага может оказывать влияние на ее действие на бактерии. В статье описан ядовитый штамм дифтерии, изолирован в Варшаве, типа *mitis* относящийся к тому же серологическому типу что и полученный Фриманом чувствительный к фагу B Фримана. Этот штамм освобождает фаг похожий на фаг B и обладающий свойствами индуцирующими по отношению к нетоксическим штаммам дифтерии. Установлено, что серологический тип Фримана встречается в Польше очень редко.

B. Narbutowicz

STUDIES IN THE CONVERSION TO TOXIGENICITY OF PHAGE INFECTED ATOXIC STRAINS OF *CORYNEBACTERIUM DIPHTHERIAE*.

Summary

The paper confirms F r e e m a n's observations, and reports a method of converting nontoxigenic strains to toxic by the action of phages directly *in vivo*.

The results of the examination of secondary colonies resistant to phage showed some differences when compared with the observations of other authors. The three kinds of correlation of toxigenicity with lysogenicity and resistance to the inducing phage, specified by the mentioned authors, have been supplemented by five farther kinds. We explain the difference of the results by the conversion of the used phage into the temperate form, provoking the toxigenicity of the infected bacterial cells, and into the virulente form, acting lytically upon the strain.

The quantitive proportion of these two forms in the suspension of the phage may influence the appearance of resistant or not resistant, lysogenic, or non lysogenic bacteria. A toxigenic strain of *C. diphtheriae* has been described (isolated in Warsaw) of the *mitis* group, belonging to the same serological type as Freeman's strain and sensitive to Freeman's phage B. This strain detaches a phage similar to phage B, with identical inductive properties for nontoxigenic strains. It was showed that Freeman's serologic type of *C. diphtheriae* appears only rarely in Poland.

LITERATURA

1. B a r k s d a l e L. W., P a p p e n h e i m e r A. M. jun., 1954: „Phage — host relationships in nontoxigenic and toxigenic diphtheria bacilli", *J. Bact.*, **67** : 220.
2. B e r t a n i, 1953: The Nature of Virus Multiplication. Second Symposium of the Society for General Microbiology 1953, Cambridge.
3. B o y d, 1953: The Nature of Virus Multiplication. Second Symposium of the Society for General Microbiology 1953, Cambridge.

4. Calmette A., Boquet A., Negre L., Bretey J., 1948: Manuel technique de Microbiologie et Serologie, Masson et Cie, Paris.
5. Ferris A. A., 1950: Serological type of *Corynebacterium Diphtheriae* in Australia", *J. Path. Bact.*, **62** : 6.
6. Fisk R. T., 1952: Studies on staphylococci. I. Occurence of Bacteriophages Carriers among strains of *Staphylococcus aureus*, *J. Inf. Dis.*, **71** : 152.
7. Fredericq P., 1952 a: Technique simple et rapide de culture et de conservation des interobacteriophages, *C. R. Soc. Biol.*, : 295.
8. Fredericq P., 1952 b: La sterelisation par chloroforme des bacteriophages., *C. R. Soc. Biol.*, : 1293.
9. Freeman V. J., 1951: Studies on the virulence of bacteriophages infected strains of *Corynebacterium Diphtheriae*, *J. Bact.*, **61** : 675.
10. Freeman V. J., Morse J. U., 1952: Further observations on the change to virulence of bacteriophage-infected avirulent strains of *Corynebacterium Diphtheriae*, *J. Bact.*, **63** : 407.
11. Groman N. B., Lockart R. Z., 1953: A study of the application of standard phage technique to the host-phage system of *Corynebacterium Diphtheriae*, *J. Bact.*, **66** : 178.
12. Groman N. B., 1953 a: Evidence for the induced nature of the change from nontoxigenity to toxigenity in *Corynebacterium Diphtheriae* as a result of exposure to specific bacteriophage, *J. Bact.*, **66** : 184.
13. Groman N. B., 1953 b: The relation of bacteriophage to the change of *Corynebacterium Diphtheriae* from avirulente to virulente, *Science*, **117** : 297.
14. Groman N. B., 1955: Evidence for the Active Role of Bacteriophage in Conversion of Nontoxigenic *C. diphtheriae*, to Toxin Production. *J. Bact.*, **69** : 9.
15. d' Herelle, 1926: Le bacteriophage et son compartement, Masson et Cie, Paris.
16. Hewitt L. F., 1952 a: Bacteriophage as a factor in epidemiology and bacterial evolution. Lysis of diphtheria bacilli by staphylococcal bacteriophage, *Lancet*, **2** : 272.
17. Hewitt L. F., 1952 b: Diphtheriae bacteriophages and their relation to the development of bacterial variants, *J. Gen. Microbiol.*, **7** : 362.
18. Jakubkiewicz J., 1935: Badania nad niepełnowartościową anatoksyną oczyszczoną, *Med. Dośw. Społ.*, z. 3/4.
19. Jerne N. K., Skovsted L., 1953: The rate of inactivation of bacteriophage T_4 R in specyfic anti- serum, *Ann. Inst. Pasteur*, **84** : 73.
20. Kolmer J. A., 1952: Approved laboratory technic, Levis, London.
21. Kriss, 1954; Strojenie bakteriofaga, *Usp. Sowr. Biol.*, **36** : 346.
22. Lieb, 1953: The Nature of Virus Multiplication. Second Symposium of the Society for General Microbiology, 1953, Cambridge.
23. Lwoff A., Simonwitch L., Kieldgaard N., 1950: Induction de la production de bacteriophages chez une bactérie lisogene, *Ann. Inst. Pasteur*, **79** : 815.
24. Lwoff A., 1953: Lysogeny, *Bact. Rev.*, **17** : 270.
25. Morton H. E., 1940: *Corynebacterium Diphtheriae*. A correlation of recorded variation within the species, *Bact. Rev.* **4** : 177.

26. Parson E. I., Frobisher M., 1951: Effect of bacteriophage on virulence of *Corynebacterium Diphtheriae*, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **78** : 746.
27. Parson E. I., Frobisher M., 1953: Bacteriophage and the toxigenicity of *Corynebacterium Diphtheriae*, *Am. J. Publ. Health*, **43** : 269.
28. Stone F. M., Hobby G. L., 1934: A coccoid form of *Corynebacterium Diphtheriae* susceptible to Bacteriophage, *J. Bact.*, **27** : 403.

J. Łanowska

WSTĘPNE BADANIA NAD WPŁYWEM ŚRODOWISKA NA WYSTĘPOWANIE MIKORYZY U ZIEMNIAKA

Z Działów Ekologii IHAR i Mikrobiologii IUNG w Puławach
Wpłynęło dn. 15 czerwca 1955 r.

WSTĘP

Wobec rozbieżności poglądów na mykotroficzne odżywianie się ziemniaka w glebach uprawnych (M a g r o u i inni 1943; D o m i n i k 1953, 1954, F r y d m a n 1954 oraz S i e v e r s 1953) autorka przeprowadzała badania zmierzające do wyjaśnienia tego zagadnienia.

Materiałem doświadczalnym były ziemniaki, pobrane z gleby uprawnej i z gleby leśnej z poletek doświadczalnych założonych przez Zakład Ekologii IHAR w Puławach (pole Kępa, pole Osiny i las Ruda). Rośliny, z których pobrano próbki, nie wykazywały obecności wirusów (badania serologiczne A. C z a r n o c k i e j w r. 1953).

Przedmiotem badań było *Solanum tuberosum* odmiana „Łorch" szczególnie podatna na choroby wirusowe. Badane ziemniaki były rozmnażane z bulw.

W tablicy I podano stanowisko, rodzaj gleby, uprawy, nawożenia i przedplonu, oraz kombinacje doświadczalne, w jakich znajdowały się ziemniaki uprawiane w latach 1952 — 1953.

Rośliny do badań pobrano z następujących stanowisk: Las: W lesie sosnowo-dębowym wysadzano ziemniaki na glebie piaszczystej (Tabl. I, cz. II, kol. 2, r. 51) i piaszczystej z domieszką gliny (Tabl. I, cz. II, kol. 2, r. 52. 53). Nawożenie stosowano w lesie tylko w 1951 r. 1,05 kg/ar soli potasowej, 1,05 kg/ar azotniaku, 0,7 kg/ar supertomasyny. W latach 1952—53 nawozów nie dawano.

Każdego roku wysadzano ziemniaki na nowej porębie dokonanej na wiosnę, na której pozostawały jeszcze niewykarczowane pnie. Pobrane do badań krzaki rosły nadto w pobliżu młodych dębczaków i runa leśnego.

Pole: Jako polowe tereny doświadczalne obrano Stację Dośw. Osiny pod Puławami i Puławy-pole dośw. Kępa, odległe od siebie o około 8 km.

Na Osinach wysadzano ziemniaki na bielicy o podłożu gliniastym. Nawożenie mineralne stosowano: 1,05 kg ar soli potasowej, 1,05 kg ar azotniaku, 0,7 kg ar supertomasyny. Przedplon niewiadomy. Na Kępie wysadzano ziemniaki na madzie.

W 1952 r. wysadzano ziemniaki na polu nawożonym na jesieni 1951 r.: 2 q ha superfosfatu, 3 q ha soli potasowej. W 1953 r. wysadzano ziemniaki na polu nawożonym na wiosnę 1951 r. obornikiem, a na jesieni 1951 r. dano tam 2 q ha soli potasowej, 3 q ha tomasyny; na wiosnę 1952 — 4 q ha saletry. Przedplon stanowił

w 1952 r. zaślaz — w 1953 r. na wiosnę — mieszanka motylkowych, na jesieni tulipany. Próbki do badań zebrano w jesieni pod koniec okresu wegetacji: z lasu 6.9.1953, z Kępy 7.10.1953. Pobierano je z 7 kombinacji jakie zastosowano w ciągu tych trzech lat.

KOMBINACJE DOŚWIADCZALNE

Nr kombinacji	1951 r. stanowisko	1952 r. stanowisko	1953 r. stanowisko
1	Las Ruda Oddz. 18	Las Ruda Oddz. 20	Las Ruda Oddz. 19
2	„ „ „ „	Kępa — pole	„ „ „ „
3	Osiny — pole	Las Ruda Oddz. 20	„ „ „ „
4	„ „	Kępa — pole	„ „ „ „
5	Las Ruda Oddz. 18	„ „	Kępa — pole
6	Osiny — pole	„ „	„ „
7	„ „	Las Ruda Oddz. 20	„ „

Z każdej kombinacji wzięto do badań po 2 krzaki ziemniaka. Całość systemu korzeniowego każdego krzaka podzielono na trzy strefy: górną (9 cm), środkową (18 cm), dolną (18-20 cm). Do badań wybrano korzonki boczne, na ogół takie, które były zakończone czapeczką. Wzięto po 8 próbek korzeni z każdej strefy jednej kombinacji (24 próbki z obu krzaków). Z każdej partii korzeniowej sporządzono po 8 preparatów: 5 z korzeni w przekroju poprzecznym i 3 w przekroju podłużnym. Materiał został najpierw utrwalony w mieszaninie utrwalającej Nawaszina. Preparaty sporządzono metodą parafinową, wykonując skrawki grubości 12 μ. Wybarwiono je metodą Stoughtona (thionina różnicowana przez Orange G). W sumie ze 168 korzeni sporządzono i przebadano 250 preparatów. Wyniki zestawiono w tabeli I.

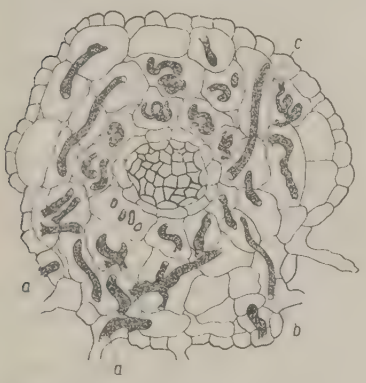
WYNIKI BADAŃ

1. PRZEBIEG ZAKAŻENIA I ROZWÓJ GRZYBNI W KORZENIACH ZIEMNIAKA

Stwierdzono, że zakażenie może nastąpić zarówno przez włośnik, jak i przez zwykłą komórkę epidermy (rys. 1). W większości preparatów, zarówno z lasu jak i z pola (Kępa), widoczne były wyraźne, silnie zbite kłębuszki grzybni, znajdujące się przeważnie w drugiej warstwie komórek otaczających walec osiowy. Sploty grzybni docierały niekiedy aż do endodermy i wtedy znajdowały się zawsze w stadium trawienia.

Nitki grzybni są wielokomórkowe, o rzadko rozmieszczonych przegródkach, rozgałęziają się w komórkach kory pierwotnej i wędrują w głąb korzenia, tworząc wyraźne, grube sploty (rys. 1). Zakończenia nitek grzybni są łagodnie zaokrąglone, co świadczyłoby o łatwości ich przenikania przez błony komórek (rys. 1). Grubość nitek w preparatach ziemniaków z pola (Kępa) wynosiła 13,3 — 17,7 μ, w ziemniakach z lasu 2,6 — 3,2 μ. Nitki grzybni rozwijały się wewnątrz samych komórek, a nie w przestrzeniach międzykomórkowych.

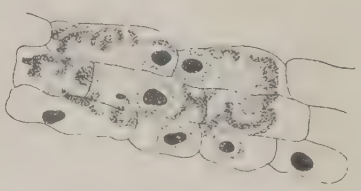
Objawy trawienia grzybni obserwowano często. Grzybnia ulega najpierw rozluźnieniu i rozbiciu na bryłki, po czym rozpada się na ziarnistą masę (rys. 2). Strzępki nienaruszone wybarwiały się na kolor ciemno-



Rys. 1. Przekrój poprzeczny korzenia ziemniaka:
a) przenikanie strzępek przez włośnik i komórkę epidermy
b) wędrowanie nitek grzybni poprzez komórki kory pierwotnej
c) tworzenie się pierwszych kłębuszków.

Рис. 1. Поперечный разрез корня картофеля:
a) проникновение гиф чевез корневой волосок и эпидерму
b) проникновение гиф из клетки в клетку
c) появление первых клубочков.

Fig. 1. Cross-section of a potato root
a) penetration of hyphae through the root hair and epidermal cells
b) wandering of hyphae through the cells
c) development of the first hyphae balls.



Rys. 2. Przekrój podłużny przez korzeń ziemniaka:
proces trawienia grzybni
Рис. 2. Продольный разрез корня картофеля:
процесс разлажения мицелия
Fig. 2. Longitudinal section of the potato root:
The process of digestion of mycellium

brązowy lub ciemno-fioletowy aż do prawie czarnego. Produkty rozpadu wybarwiały się zależnie od stopnia trawienia: na kolor jasno-brunatny, jasno fioletowy lub ciemno-szary, stopniowo przechodząc w szaro brązowy, szarozielonkawy, aż do szaro-żółtego i bardzo delikatnych jasno-szarych smug. U ziemniaka z lasu widoczny był najczęściej rozpad grzybni na bezkształtne bryłki. Dalsze fazy procesu trawienia znajdowano głównie u ziemniaka z pola (Kępy), szczególnie w kombinacji 6. Charakterystyczne pęcherzykowate rozdęcia grzybni (S t r z e m s k a, 1952) spotykano tylko w dwóch preparatach korzeni pobranych z pola — Kępy.

W niektórych preparatach ziemniaków z Kępy w kombinacji 7 (tab. str. 266) spotkano nadto grzyb o grzybni delikatnej, gęsto rozgałęzionej, słabo wybarwiającej się, o licznych przegródkach. Nie tworzył

on splotów, ale też nie wnikał do walca osiowego. Śladów trawienia tego grzyba nie spotkano. Miał on prawdopodobnie charakter półsaprofityczny.

2. PORÓWNANIE ROZWOJU MIKORYZY U ZIEMNIAKÓW W ZALEŻNOŚCI OD STANOWISKA, RODZAJU GLEBY I NAWOŻENIA.

Stwierdzono, że opisana wyżej mikoryza wewnętrzna występowała zarówno u ziemniaków rosnących w lesie, jak też u ziemniaków na polu, gdzie gleba była racjonalnie uprawiana i nawożona (Tab. I, komb. 2, 4, 5, 6, 7, cz. III).

W lesie wykazały mykotrofizm jednak tylko te ziemniaki, które wysadzono tam w r. 1951, przeniesiono na pole w 1952 i w 1953 znów sadzono je w lesie. Stopień zakażenia grzybem był słaby, a trawienia grzybni nie stwierdzono (tab. I, komb. 2, cz. III).

Silny stopień zakażenia wykazały natomiast takie ziemniaki, które w ciągu trzech lat przechodziły na różne odległe od siebie stanowiska (z pola na Osinach na pole na Kępie oraz do lasu Ruda). Obserwowano tu trawienie grzybni (tab. I, komb. 4, cz. III).

Nie wykazały mykotrofizmu ziemniaki wysadzane w lesie przez trzy kolejne lata (tab. I, komb. 1, cz. III) oraz ziemniaki wysadzone najpierw na polu (w Osinach) a przez dwa następne lata w lesie (tab. I, komb. 3, cz. III).

W warunkach uprawy polowej ziemniaka mikoryza rozwijała się silniej niż u roślin rosnących w lesie i znaleziono ją we wszystkich stosowanych kombinacjach siedliskowych ziemniaków (tab. I, komb. 5, 6, 7, cz. III).

Najsilniej rozwijała się mikoryza, podobnie jak w lesie, na korzeniach ziemniaków przenoszonych na odległe stanowiska (tab. I, komb. 7, cz. III).

Ciekawy jest fakt, że ziemniaki, które w ogóle przez las nie przeszły, miały dobrze rozwiniętą mikoryzę (tab. I, komb. 6, 5).

Na ogół z załączonej tablicy wynikałoby, że mikoryza wcale nie jest charakterystyczna dla nieuprawnego środowiska leśnego i że silniejszy mykotrofizm stwierdzono u korzeni ziemniaka z uprawnego od lat pola na Kępie.

Badając wpływ nawożenia, stwierdzono, że mikoryza nie wystąpiła w korzeniach tych ziemniaków, którym dawano pełne nawożenie mineralne (sól potasowa, azotniak, supertomasyna) tylko w pierwszym roku uprawy (tab. I, komb. 1, 3 cz. II r. 1951—53, kol. 3). Natomiast stwierdzono obecność mikoryzy u ziemniaków, którym dawano nawożenie mineralne przez dwa lub trzy lata (w 1951 r. sól potasowa, azotniak, supertomasyna, w 1952 r. sól potasowa, superfosfat lub tomasyna, w 1953 saletra) (tab. I, komb. 2, 4, 5, 6 i 7 kol. 3 r. 1951—53).

3. NASILENIE ROZWOJU MIKORYZY W POSZCZEGÓLNYCH CZĘŚCIACH KORZENI I JEGO ZALEŻNOŚĆ OD WIEKU ROŚLIN.

We wszystkich badanych bombinacjach występowała mikoryza przeważnie w młodych cienkich korzonkach. Najczęściej i najsilniej zaka-

Tabela I

Występowanie i nasilenie rozwoju mikoryzy u ziemniaka

Наличие и сила развития микоризы у картофеля

The incidence of mycorrhiza and vigour of its development in potatoes

I	II												III																							
	Warunki ekologiczne badanych ziemniaków												Nasilenie rozwoju mykoryzy w 1953 r.																							
	1951 r.				1952 r.				1953 r.				a								b								c							
Nr kombinacji	1 Stanowisko	2 Gleba	3 Nawożenie	4 Przedplon	1 Stanowisko	2 Gleba	3 Nawożenie	4 Przedplon	1 Stanowisko	2 Gleba	3 Nawożenie	4 Przedplon	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Las Ruda Oddz. 18 sosnowo-dębowy	piaszczysta	1,05 kg na 1 ar soli potasowej, 1,05 kg na 1 ar azotniaku, 0,7 kg na 1 ar superfosfatu	Las Ruda Oddz. 18 sosnowo-dębowy	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	piaszczysta z domieszką gliny	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	Las Ruda Oddz. 19 sosnowo-dębowy	piaszczysta z domieszką gliny	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	nigdzie								nie								stwierdzono							
2.	Las Ruda Oddz. 18 sosnowo-dębowy	piaszczysta	— „ —	— „ —	Kępa—pole	mada	2 q na 1 ha superfosfat i 3 q na 1 ha sól potasowa (pole nawożone jesienią w 1951 r.)	zaślaz	— „ —	— „ —	—	— „ —	0	0	0	0	0	0	0	0	++	++	0	0	0	0	++++	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3.	Osiny—pole	bielica o podłożu gliniastym	—	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	piaszczysta z domieszką gliny	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	— „ —	— „ —	—	— „ —	nigdzie								nie								stwierdzono							
4.	Osiny—pole	bielica o podłożu gliniastym	— „ —	—	Kępa—pole	mada	2 q na 1 ha superfosfat i 3 q na 1 ha sól potasowa (pole nawożone jesienią w 1951 r.)	zaślaz	— „ —	— „ —	—	— „ —	+++	++	++	+	0	++++	+++	0	0	++++	+	+++	0	++++	0	+++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	+++
5.	Las Ruda Oddz. 18 sosnowo-dębowy	piaszczyste	— „ —	Las Ruda Oddz. 18 sosnowo-dębowy	Kępa—pole	mada	— „ —	— „ —	Kępa—pole	mada	wiosną 1951 r. obornik, jesienią 2q na 1 ha soli potasowej 3 q na 1 ha tomasyny, na wiosnę 1952 r. 4 q na 1 ha saletry	wiosną — mieszanka motylkowych, jesienią — tulipany	+++	+++	0	0	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	++++	0	- -	- -	- -	- -
6.	Osiny—pole	bielica o podłożu gliniastym	— „ —	—	Kępa—pole	mada	— „ —	— „ —	Kępa—pole	— „ —	— „ —	— „ —	0	0	0	0	0	0	0	+	++++	+++	0	++++	0	++++	++++	++++	0	0	+	++++	++++	0	0	0
7.	Osiny—pole	— „ —	— „ —	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	piaszczysta z domieszką gliny	—	Las Ruda Oddz. 20 sosnowo-dębowy	Kępa—pole	— „ —	— „ —	— „ —	++++	++++	+++	0	+++	++++	++++	++++	+++	0	+++	0	+++	++	+++	+	+++	+++	0	0	0	++++	++++	+

Objaśnienia znaków:

Strefy korzenia ziemniaka: a — poziom górny, b — poziom środkowy, c — poziom doliny

Oznaczenia preparatów z korzenia ziemniaka:

1, 2, 3, 4, 5 — nr preparatów o przekroju poprzecznym

6, 7, 8 — „ „ „ „ podłużnym

Oznaczenia nasilenia rozwoju mikoryzy:

0 — brak mikoryzy

\+ — słaby stopień zaatakowania

++ — średni „ „

+++ — silny „ „

++++ — b. silny „ „

żone były zakończenia tych korzeni w strefie stożka wzrostu. Zakażenie występowało w korzeniach bocznych całego systemu korzeniowego, przeważnie w ich partii środkowej i dolnej (tab. I, cz. III). Starsze zdrewniałe korzenie były pozbawione mikoryzy.

W przeciwieństwie do wpływu mikoryzy na korzenie zbóż (S t r z e m s k a, 1952) nie stwierdzono jej wpływu na budowę korzeni ziemniaka. Ich kształty regularne, jak i zdeformowane spotykano zarówno w obecności, jak i braku mikoryzy.

WNIOSKI OGÓLNE.

Przeprowadzone badania wykazały, co następuje:

1. U *Solanum tuberosum* występowała mikoryza endotroficzna tak w glebie leśnej, jak i w uprawie polowej (tab. I, cz. III).

2. Różnica w grubości strzępek grzybni ziemniaka z lasu i z pola, odmienna reakcja grzybni na barwniki, różnice w wyglądzie kłębuszków grzybni i w procesie ich trawienia wskazywałyby na to, że zależnie od środowiska, ziemniak był zakażany przez różne grzyby.

3. Grzyby te w komórkach korzeni ziemniaka tworzyły typowe kłębuszki i sploty (rys. 1). Proces trawienia grzybni stwierdzano często (rys. 2).

4. Sądząc z naszych badań, mikoryza wcale nie byłaby charakterystyczna tylko dla gleb nieuprawnych i ubogich. Rozwijała się ona również w warunkach gleby żyznej (mada) (tab. I, r. 1953, kol. 2). Nie stwierdzono też wyraźnego wpływu nawożenia.

5. Uprawa i stałe przenoszenie ziemniaka na nowe stanowiska nie tylko nie przeszkadzały tworzeniu się mikoryzy, ale wyraźnie jej sprzyjały. (Tab. I, komb. 4 i 7).

6. Mikoryzę znajdowano głównie w korzeniach młodych przy czym infekcji podlegały korzenie boczne całego systemu korzeniowego, głównie jednak atakowane były ich partie środkowe i dolne. (Tab. I, cz. III).

Badania niniejsze należy traktować jedynie jako wstępne. Wymagają one powtórzenia na liczniejszym materiale.

Składam serdeczne podziękowania Kierownikowi Zakładu Mikrobiologii IUNG — Puławy Prof. Dr J. Z i e m i ę c k i e j za życzliwe ustosunkowanie się do mojej pracy i udostępnienie mi korzystania z pracowni tego Zakładu, oraz Doc. Dr J. S t r z e m s k i e j za bezpośrednie kierowanie tą pracą.

Я. Лановска

ВЛИЯНИЕ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ НА ОБРАЗОВАНИЕ МИКОРИЗЫ НА КОРНЯХ КАРТОФЕЛЯ

Резюме

Целью настоящей работы является установить выступает ли на корнях картофеля микориза и если так, то в каких условиях.

Исследованиям был подвергнут картофель, засаженный на двух опытных делянках.

1) на пахотном поле и 2) в лесу на непахотном поле. Картофель разновидности „Лорх" разводился с клубней. Вирусы на них отсутствовали. Из корней исследуемых растений были приготовлены прочные микротомовые препараты. В общей сумме было исследовано около 160 препаратов. Установлено наличие внутренней микоризы как на корнях картофеля растущего в лесу, так и на корнях картофеля растущего на рационально культивированной и удобряемой почве (табл. 1). На пахотном поле микориза развивалась гораздо сильнее нежели у растений, растущих в лесу (табл. 1 ч. II, комб. 5, 6 и 7). Лучше всего микориза развивалась на корнях картофеля переносимых в разные места (табл. 1 ч. III комб. 4 и 7).

J. Łanowska

PRELIMINARY STUDIES ON THE INFLUENCE OF THE ENVIRONMENT UPON THE MYCORRHIZA IN POTATO-PLANTS.

Summary

Author examined the roots of *Solanum tuberosum* grown in the field and in the forest soil.

The development of the mycorrhiza was observed in all plants taken from the ploughfield.

The plants grown in the forest-soil through three subsequent years were free from the infection (Table I).

The funci entering in the symbiotic relationships with potato in the forest soil and in the plough-field are morphologically different.

The development of the mycorrhiza was most pronounced in the plants which were every year transferred to a new field.

LITERATURA

1. Bernard N. 1911 Les mycorrhises des Solanum, *Ann. Sci. Nat., Ser.* 9. Bot. **14** : 235.
2. Dominik T., 1951: Mykorhiza. Warszawa. Państw. Wyd. Roln. i Leśne.
3. Dominik T., 1953: Biuletyn Komitetu Ekol. PAN, Warszawa. Nr 3 : 19.
4. Dominik T. 1954 Nr marginesie doświadczeń w Ochabach. Biuletyn Komitetu Ekol. PAN, Warszawa Nr 2 : 5.
5. Frydman I., 1954: Badanie mykotrofizmu ziemniaków w uprawie. *Postępy Nauki Rolniczej* **1** : 51.
6. Magrou J., Bouget J., Segretain G., 1943: Semi symbiotiques de pomme de terre dans les Pyrenées. *Comp. rend. Acad. Sci.*, **216** : 501.
7. Sievers E., 1953: Untersuchungen über die Mycorrhisen von Allium und Solanum Arten., *Arch. Mikrobiol.*, **18** : 289.
8. Strzemska J., 1950: Zagadnienie mikoryzy. Wydawn. powiel. Wydz. Glebozn. PINGW Oddz. Lub.-Kiel. w Puławach, Puławy.
9. Strzemska J., 1952: Zagadnienie mikorozy u zbóż, cz. II. *Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 24.
10. Strzemska J., 1953: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. cz. III., *Acta Microbiol. Polon.*, **2** : 297.
11. Strzemska J., 1954: Przegląd nowych badań nad mikoryzą zbóz. *Kosmos*, Warszawa, Z. 5 : 551.

A. Luchter

ZDOLNOŚĆ WYKORZYSTYWANIA RÓŻNYCH WĘGLOWODORÓW PRZEZ BAKTERIE TERENÓW ROPONOŚNYCH

Instytut Naftowy, Sekcja Geobiologii, Kraków

Wpłynęło dnia 29.VI.1955

WSTĘP

Bakteriami węglowodorowymi nazywamy takie, które charakteryzują się zdolnością zużywania węglowodorów jako jedynego źródła węgla i energii. Tą interesującą pod względem fizjologicznym grupą bakterii zajmowało się wielu mikrobiologów (np. Söhngen 1906). Wykazali oni, że prawie wszystkie grupy węglowodorów mogą ulegać atakowi bakterii, przy czym próbowali wykryć zależność działalności drobnoustrojów od struktury węglowodorów. Stwierdzili również, że proces utleniania węglowodorów odbywa się przede wszystkim w warunkach tlenowych, ale może też zachodzić w warunkach beztlenowych przy udziale nielicznej grupy bakterii. Dopiero obecnie jednak te badania znalazły zastosowanie w przemyśle naftowym.

W Związku Radzieckim opracowano (Mogilewski 1940, 1947, 1954, Bokowa, Kuzniecowa i Kuzniecow 1947) mikrobiologiczną metodę poszukiwań ropy naftowej, opierając się na zdolności drobnoustrojów do utleniania węglowodorów. Równolegle do badań mikrobiologicznych w terenach roponośnych prowadzi się w Związku Radzieckim badania laboratoryjne. Bokowa (1954) wyhodowała bakterie utleniające etan i propan i podała dokładny opis zastosowanej przy tym metody. Węglowodory gazowe występują w warstwach podglebia w bardzo drobnych ilościach. Bokowa przeprowadziła hodowlę w atmosferze powietrza zmieszanego z etanem lub propanem, przy czym wykazała, że bakterie utleniające etan mogą rozwijać się w atmosferze gazu o stężeniu 0,5 %, a utleniające propan nawet przy tak małym jego stężeniu jak 0,001 %.

W Stanach Zjednoczonych pojawiły się liczne patenty, np. Blau (1942), Sanderson (1942), Taggart (1941).

W Niemczech Schwartz i Müller (1953), a w Czechosłowacji Dostalek (1953) przeprowadzili także badania próbne. W Polsce badania te prowadzone są w Instytucie Naftowym (Luchterowa 1952, 1953, 1954).

Metoda mikrobiologiczna służąca do poszukiwań złóż naftowych polega bądź to na obserwacji stopnia rozwoju wskaźnikowych szczepów bakterii węglowodorowych, które umieszczamy w warstwach po-

wierzchniowych terenów objętych poszukiwaniami, bądź też na stwierdzaniu obecności bakterii węglowodorowych w badanych próbkach wody lub gleby. Przypuszcza się bowiem, że w terenach ropo- lub gazonośnych nad złożem lub w jego pobliżu występuje liczna flora węglowodorowa, która zużywa węglowodory gazowe dyfundujące ze złóż.

BADANIA WŁASNE

W pracowni mikrobiologicznej Instytutu Naftowego w Krakowie wyodrębniono 120 zespołów szczepów bakterii w obecności węglowodorów jako jedynego źródła węgla i energii. Równocześnie przeprowadzona hodowla kontrolna wykazała, że bakterie te nie korzystają z dwutlenku węgla powietrza jako ze źródła węgla.

W drugiej fazie badań umieszczono te zespoły w specjalnych koszyczkach w służących do badań otworach o głębokości około 3 m. Trzymano je tam przez okres 20 dni. Badania przeprowadzone zostały w terenie roponośnym i dla porównania w miejscach, w których nie stwierdzono obecności ropy.

Jako podłoże zastosowano żel krzemionkowy nasycony pożywką mineralną. Jedyne źródło węgla stanowić w niej miały węglowodory dyfundujące znad złoża ku warstwom powierzchniowym gleby. Wzrost drobnoustrojów w tych warunkach świadczyć winien o zdolności korzystania z węglowodorów gazowych. Po upływie 20 dni stwierdzono rozwój 24 zespołów szczepów w terenie roponośnym, a równocześnie otrzymano wyniki negatywne w terenie nieroponośnym. Następnie powtórzono kilkakrotnie te badania, umieszczając 24 zespoły szczepów w otworach służących do badań terenów roponośnych. W czasie tych badań stwierdzono, że zespoły te różniły się między sobą pod względem zdolności rozwoju w tych warunkach. Dwa zespoły okazały się szczególnie aktywne (L u c h t e r, 1954).

Równocześnie przeprowadzono w laboratorium badania fizjologiczne nad tymi 24 zespołami bakterii, które w terenie roponośnym wykazały wzrost.

Przebadano:

1) ich zdolność korzystania z różnych źródeł węgla, oraz
2) zależność wzrostu od temperatury hodowli.

W celu sprawdzenia zdolności korzystania z różnych źródeł węgla przeprowadzono hodowle w obecności węglowodorów, lub w podłożach zawierających węglowodany, mannitol i winian sodu.

HODOWLA W OBECNOŚCI WĘGLOWODORÓW CIEKŁYCH

Przebadano zdolność bakterii do wykorzystywania węglowodorów ciekłych. Wyniki zestawiono w tablicy I. Hodowlę przeprowadzono na pożywkach bezwęglowych, przy czym jedynym źródłem węgla były węglowodory: ropa naftowa, nafta, benzyna oraz olej parafinowy.

Zastosowano pożywkę mineralną według przepisu B o k o w e j (1947): KNO_3 — 1,0 g, $MgSO_4$ — 0,2 g, K_2HPO_4 — 0,5 g, — KH_2PO_4 — 0,5 g, NaCl — 1,0 g, woda wodociągowa 1000 ml.

Przeprowadzono obserwacje nad rozwojem bakterii w obecności powyższych węglowodorów na żelu i w pożywce płynnej. (Tab. I).

Zdolność wykorzystania różnych węglowodorów przez zespoły szczepów bakteryjnych wyosobnione z terenów roponośnych

Способность к использованию различных источников углерода скоплениями углеводородных бактерий выделенных из нефтяных месторождений.

Utilization of various carbon sources by the associations of bacteria isolated from the oil-fields

Nr zespołu	Pochodzenie: Teren	Pochodzenie: Węglowodory	Rozwój w obecności węglowodorów na pożywce mineralnej: Ropa naftowa	Nafta	Benzyna	Olej parafin.	Kontrola bez węglowodor.
1	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn. Kożuszek na pow. Zmiana zabarw. pożywki na kolor żółty	++ Średnie zmętn Kożuszek na pow. Zmiana zabarw. pożywki na kolor żółty	++ Wzrost średni	++ Średnie zmętnienie kłaczki	—
2	Teren roponośny	Nafta	+++ Duże zmętnienie Zmiana zabarw. pożywki na kolor jasno żółty	++ Średnie zmętn Zmiana zabarw. pożywki na kolor jasno żółty	+ Lekkie zmętnienie	++ Średnie zmętnienie	—
3	Teren roponośny	Ropa naft.	+++ Silne zmętnienie. Zmiana zabarw. na kolor brązowy	—	++ Wzrost średni	++ Zmętnienie średnie, pęcherzyki gazu	—
6	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn. Zmiana zabarw. na kolor j. żółty	+ Małe zmętnienie. Kłaczki, pęcherzyki gazu. Zmiana zabarwienia na kolor żółty	+ Wzrost słaby	++ Olej parafin. rozbity na kłaczki. Średnie zmętnienie	—
11	Teren roponośny	propan	+ Słabe zmętnienie	++ Średnie zmętn. Zmiana zabarw. na kolor j. żółty	+ Wzrost słaby	++ Średnie zmętnienie, pęcherzyki gazu, mały kożuszek na pow.	—
14	Teren roponośny	Nafta	+ Słabe zmętnienie	+ Słabe zmętnienie Pęcherzyki gazu	+ Wzrost słaby	+++ Silne zmętnienie Kożuszek biały.	—
19	Teren roponośny	Nafta	+ Słabe zmętnienie	+++ Silne zmętnienie	+ Śl. zmetnienie	++ Średnie zmętnienie	—
21	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn	++ Średnie zmętn Zmiana zabarwienia pożywki na kolor intensywnie żółty	++ Wzrost średni	++ Średnie zmętnienie Mały kożuszek na pow.	—
22	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn. Kożuszek. Zmiana zabarwienia pożywki na kolor żółty	++ Średnie zmętnienie. Kożuszek. Zmiana zabarwienia pożywki na kolor bordowy	—	++ Średnie zmętnienie, kożuszek	—
25	Teren roponośny	Nafta	+ Słabe zmętnienie	+ Słabe zmętnienie pęcherzyki gazu.	+ Wzrost słaby	++ Średnie zmętnienie Pęcherzyki gazu.	—
33	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn. Zabarwienie pożywki na kolor żółty	+++ Silne zmętnienie Zabarwienie pożywki na kolor żółty	++ Wzrost średni	++ Średnie zmętnienie, biały kożuszek	—
45	Teren roponośny	olej paraf.	++ Średnie zmętn. Zabarwienie pożywki na kolor j. żółty	++ Średnie zmętnienie. Zabarwienie pożywki na kolor intensywnie żółty	++ Wzrost średni	+++ Silne zmętnienie. Kożuszek żółty.	—
48	Teren roponośny	Ropa naft.	++ Średnie zmętn Zabarwienie pożywki na kolor żółty	+++ Silne zmętnienie Zabarwienie pożywki na kolor oliwkowy.	—	—	—
50	Teren roponośny	Nafta	++ Zmiana zabarwienia pożywki na kolor żółty	+++ Wytwarza pomarańczowo - żółty barwik dyfundujący	+ Wzrost słaby	++ Kożuszek	—
51	Teren roponośny	Nafta	++ Średnie zmętn.	+++ Wytwarza czerwony barwik w pożywce.	—	+++ Kożuszek	—
53	Teren roponośny	olej paraf.	+ Lekkie zmętnienie pożywki	++ Zmiana barwy pożywki i kożuszek	—	+ Kożuszek	—
61	Teren roponośny	Nafta	+ Zmętnienie	+++	+ Wzrost na powierzchni	+ Kożuszek na pow. oleju paraf.	—
74	Teren roponośny	Ropa naft.	++ Kożuszek	+ Zm. barwy pożyw.	++ Kożuszek	+ Zmętnienie, kożuszek	—
75	Teren roponośny	Ropa naft.	+ Kożuszek	+ Zm. barwy pożyw.	++ Kolonie białe	+ Kożuszek	—
80	Teren roponośny	olej paraf.	++ Kożuszek Zmętnienie	++ Zmętnienie	+ Kożuszek żółty	+++ Kożuszek różowy	—
85	Teren roponośny	Benzyna	++ Zmętnienie Zmiana zabarwienia pożywki na kolor żółty	+++ Silne zmętnienie Zmiana zabarwienia pożywki na kolor żółty	+ Lekkie zmętnienie	+ Kożuszek	—
99	Teren roponośny	Nafta	+++ Silne zmętnienie	Wytwarza barwik żółty	Lekkie zmętnienie	+++	—
106	Teren roponośny	Nafta		Silne zmętnienie	Silne zmętnienie		—
121	Teren roponośny	Nafta	+ Zmętnienie	Zmiana zabarwienia pożywki na kolor żółty	Zmętnienie	Zmętnienie	—

++ wzrost średni
+ wzrost słaby
— brak wzrostu
+ wzrost słaby

W obecności ropy naftowej na płynnej pożywce mineralnej bakterie tworzą kożuszek i zmętnienie, przy czym rzadko pojawia się zmiana zabarwienia pożywki. Na żelu skośnym wzrost jest najsilniejszy w dolnej części probówki, przy czym często stwierdza się wydzielanie barwnika do podłoża.

W obecności nafty bakterie wytwarzają na pożywce płynnej, podobnie jak w poprzednim wypadku, kożuszek i zmętnienie. Za charakterystyczny objaw należy uznać zmianę barwy pożywki z jasno żółtej na czerwoną, a nawet brązową. Na żelu skośnym barwnik dyfunduje do podłoża.

Hodowla bakterii na pożywce płynnej w obecności benzyny nastręcza duże trudności. Na żelu skośnym rozwój bakterii najszybciej występuje w górnej części podłoża. Niektóre szczepy wydzielają barwnik do podłoża.

Bardzo silny wzrost bakterii uzyskano na oleju parafinowym. W płynnej pożywce wytwarza się kożuszek i pojawia się zmętnienie. Na żelu skośnym rozwój zachodzi w dolnej części podłoża.

Skontrolowano również, czy badane bakterie nie czerpią węgla z dwutlenku węgla powietrza. Okazało się, że w braku źródeł węgla innych niż CO_2 nie rozwija się ani jeden zespół.

Omawiane zespoły bakterii wyhodowano w obecności jednego węglowodoru jako wyjściowego, skąd przeszczepiono je na pożywki zawierające inne węglowodory. Po powtórnych przeszczepieniach okazało się, że bakterie na ogół najsilniej rozwijały się na węglowodorze wyjściowym. Rozwój na innych węglowodorach był jednak również dość silny.

HODOWLA W ATMOSFERZE WĘGLOWODORÓW GAZOWYCH (TAB. II i III)

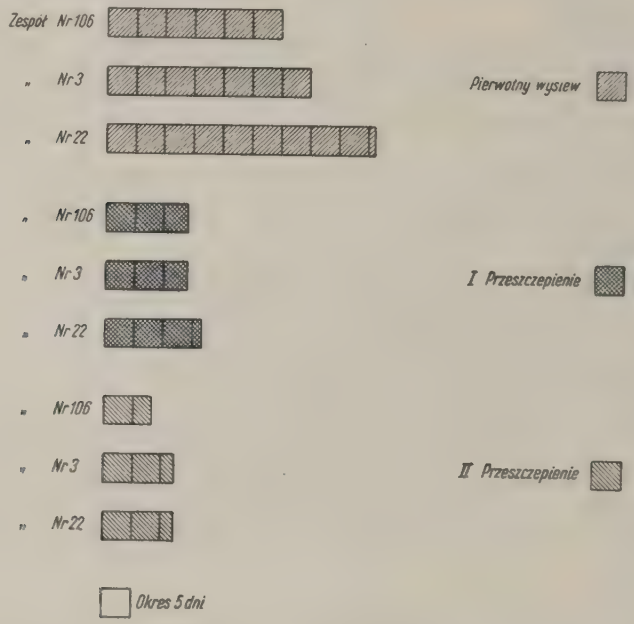
Badania przeprowadzono w atmosferze złożonej z mieszanki powietrza z propano-butanem przy różnym stężeniu tego gazu, a mianowicie 0,4% i 0,04% obj. ilości gazu. Ilość gazu w naczyniu hodowlanym uzupełniono po 2, 7 lub 14 dniach hodowli. Bakterie wysiewano na żel nasycony pożywką mineralną lub do pożywki płynnej. Po upływie miesiąca uzyskano bardzo silny wzrost zespołu nr 106. Po ponownym przeszczepieniu na to samo podłoże okres inkubacji był krótszy niż poprzednio i wynosił 7—10 dni.

Po 30 do 35 dniach hodowli rozwinął się zespół szczepów nr 3. Wzrost ich nie był tak bujny jak zespołu nr 106. Również i w tym przypadku przy powtórnych przesiewach okres inkubacji uległ skróceniu do 12—14 dni.

Zespół nr 22 rozwinął się dopiero po 40-tym dniu hodowli, wzrost jego był dość silny. Przy dalszych przesiewach wzrost nastąpił po 12—16 dniach w zależności od stężenia gazu. Zespoły nr 3 i 22 nie rozwijały się w atmosferze o małym stężeniu propano-butanu (0,04% obj.). Stosunkowo najbujniejszy wzrost stwierdzono przy uzupełnianiu gazu w naczyniu hodowlanym co 7 dni.

Zespoły te poddane zostaną w najbliższym okresie analizie morfologicznej, fizjologicznej i systematycznej. Ponieważ zespół może ulegać

przemianom, dążyć się będzie do uzyskania czystych szczepów, które nie zmieniałyby swojego charakteru przez dłuższy okres czasu i mogły być uważane za szczepy testowe.



Tabl. II. Okres inkubacji zespołów szczepów w atmosferze propanobutanu (0,42%), temp. 23°.

Табл. II. Период инкубации скоплений углеводородных бактерий (среда — 0,42% объем. пропано-бутана, температура 23°).

Table II. Incubation periods of bacterial associations (propan added in concentracion 0,42 vol. %, temperature — 23°)

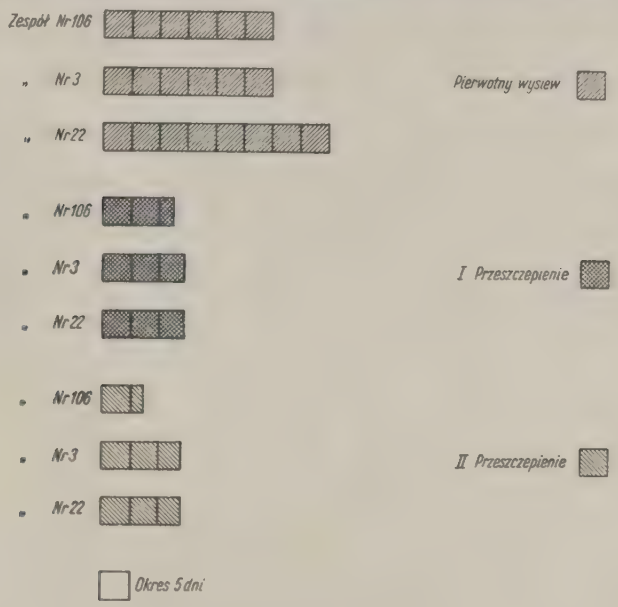
WYKORZYSTANIE INNYCH ŹRÓDEŁ WĘGLA (TAB. IV)

Do pożywki mineralnej dodano 1% glukozy, laktozy, fruktozy, galaktozy, mannitolu lub winianu sodu. W przeważnej ilości przypadków wzrost otrzymano już po 24 godzinach.

ZALEŻNOŚĆ WZROSTU OD TEMPERATURY HODOWLI (TAB. V)

Hodowle przeprowadzono w temperaturach 6°, 19°, 28°, 37° i 45°. Wyniki podane w tab. V wykazują, że dla przeważnej ilości zespołów szczepów bakterii optymalna temperatura waha się w granicach od 19° do 28°. Przy optymalnej temperaturze okres inkubacji niektórych ze-

społów wynosi tylko 2 dni. Większość zespołów wykazała zdolność do rozwoju w niskiej temperaturze (6°). Tylko 3 zespoły nie rosły w tej temperaturze. Okres inkubacji w t° = 6° jest stosunkowo długi, gdyż



Tabl. II. Okres inkubacji zespołów szczepów w atmosferze propanobutanu (4,2%), temp. 23°.

Табл. III. Период инкубации скоплений углеводородных бактерий (среда — 4,2% объема пропано-бутана, температура 23°).

Table III. Incubation periods of bacterial associations (propan added in concentration 4,2 vol. %, temperature — 23°)

wynosi 14 dni. Stwierdzenie to było dla nas ważne, gdyż temperatura w otworach służących do badań waha się około 7°. Dążeniem naszym jest możność hodowania szczepów dla celów wskaźnikowych w temperaturze szafy chłodniczej, by przystosować je do rozwoju w terenie. W hodowli przeprowadzonej w temperaturze 37° rozwinęły się wszystkie zespoły bakterii za wyjątkiem zespołu nr 3, zaś w temperaturze 45° nie rozwinął się ani jeden zespół.

W badaniach przeprowadzonych w terenie (L u c h t e r, 1954) i w laboratorium w atmosferze mieszanki powietrza z propano-butanem stwierdzono dużą aktywność 2 zespołów szczepów (nr 106 i nr 3). Zespół nr 106 dał w terenie wynik pozytywny 8 razy, a w laboratorium wyrósł w atmosferze propano-butanu w ciągu 30 dni.

Zespół szczepów nr 3 rozwinął się dobrze w terenie w 5 próbach, a w laboratorium wyrósł w atmosferze propano-butanu po 35 dniach.

Zespół szczepów nr 22 tylko jeden raz dał wynik pozytywny w próbie terenowej. Przyczyny tego należy szukać, być może, w powolnym wzroście tego zespołu. Rozwój tego zespołu nastąpił w laboratorium

Tabela IV

Wykorzystanie węglowodanów przez 24 zespoły bakterii węglowodorowych (okres inkubacji — 48 godz.)

The utilization of carbohydrates by associations of bacteria isolated from oil-fields

Использование углеводов 24 скоплениями углеводородных бактерий (время инкубации 48 часов).

Nr zespołu	Laktoza	Fruktoza	Galaktoza	Glukoza	Sacharoza	Mannit	Winian sodu
1	+	++	+++	+++	+++	+++	+
2	+	++	+++	+++	+++	+	++
3	++	+++	+++	++	+++	++	++
6	+++	+++	+++	+	+	++	++
11	++	++	+++	+	+++	++	++
14	+++	+++	+++	+++	+++	+	−
19	+	+++	+++	+	−	++	−
21	+	++	+++	+++	+	++	++
22	+	+++	++	++	+	++	+++
25	+	+	+	+++	+++	++	+++
33	++	+++	+++	+++	+++	−	−
43	++	+++	+++	+++	++	++	−
48	++	+++	+++	+++	++	++	++
50	−	++	+++	++	+++	++	++
51	−	+++	+++	++	−	++	+++
53	+++	+++	+++	++	+++	+++	+++
61	++	+	++	+	+++	++	+
74	+++	+	+	+++	++	++	++
75	+	+++	++	++	−	+	−
80	++	+++	+++	+++	+	+++	+++
85	++	+++	+++	+++	+	++	+++
99	+	++	+++	+	+	+++	−
106	+	+++	+++	++	+++	+++	++
121	+	+++	+++	++	+	++	++

— brak wzrostu; + wzrost słaby; + + wzrost silny; + + + wzrost b. silny.

dopiero po 45 dniach, podczas gdy próby terenowe przeprowadza się w ciągu 20 dni. Na podkreślenie zasługuje również fakt możności adaptowania zespołów nr 106, nr 3 i nr 22 do rozwoju w atmosferze propano-butanu (por. czas inkubacji przy powtórnych przeszczepieniach). Zespoły te po kilkakrotnych dalszych pasażach w atmosferze propanobutanu powinny by okazać się w terenie dobrymi zespołami wskaźnikowymi dla terenów roponośnych.

Tabela V

Szybkość wzrostu (w dniach) zespołów bakterii węglowodorowych w obecności ropy naftowej w zależności od temperatury

Быстрота роста (в днях) скоплений углеводородных бактерий в присутствии нефти в зависимости от температуры.

The influence of temperature on the incubation periods of bacterial associations

Nr zespołu	Temperatura				
	6°	19°	28°	37°	45°
1	14	4	4	—	—
2	14	2	2	4	—
3	14	4	4	4	—
6	6	2	4	4	
11	14	4	4	4	-
14	14	8	8	28	-
19	14	6	6	4	—
21	14	6	8	4	—
22	8	2	4	28	—
25	14	6	4	28	—
33	—	4	4	4	—
43	14	2	4	6	—
48	14	4	4	2	—
50	14	4	4	4	—
51	21	6	6	4	—
53	14	6	6	28	—
61	14	2	6	6	—
74	—	4	2	2	—
75	—	14	2	2	—
80	14	14	6	—	—
85	14	6	6	4	—
99	14	6	8	28	—
106	14	8	8	2	—
121	14	6	2	2	—

Ważne są też dla nas wyniki hodowli w niskich temperaturach. Szczepy, które mają być stosowane do badań terenowych powinny być hodowane w temperaturze około 6° ze względu na podobną temperaturę w otworach wiertniczych.

А. Люхтер

СПОСОБНОСТЬ БАКТЕРИЙ НЕФТЕНОСНЫХ РАЙОНОВ К ИСПОЛЬЗОВАНИЮ РАЗНОГО РОДА УГЛЕВОДОРОДОВ

Резюме

Настоящие исследования представляют собой фрагмент большей работы, цель которой разрешить вопрос нельзя ли использовать микробиологический метод для нефтяных разведок.

Выделены 24 ассоциаций углеводородных бактерий способных к использованию в качестве источника углерода и энергии жидких и газовых углеводородов (Табл. 1).

Лишь 3 бактерийных ассоциации проявляли рост в среде пропано-бутана. При дальнейших пересевах эти скопления приспособлялись к пропано-бутановой среде, о чем может свидетельствовать уменьшение периода инкубации (Табл. II и III).

Автором была установлена оптимальная температура для развития исследуемых бактерийных скоплений (Табл. V) и изучен их рост в полевых условиях в специальных исследовательских скважинах.

A. Luchter

UTILIZATION OF VARIOUS HYDROCARBONS BY BACTERIA ISOLATED FROM OIL-FIELDS

Summary

Author presents in this publication the results of a part of research conducted in the Geobiological Laboratory on microbiological methods in oil-prospecting.

There were isolated 24 associations of bacteria growing in media which contain as the sole source of carbon and of energy hydrocarbons (benzine, petroleum and paraffin-oil) (Table I). The growth of all but three associations in the mixture of gaseous hydrocarbons (propane and butane) was very poor. These three associations gave relatively abundant growth in mineral media without any carbon compound added when incubated in the atmosphere containing propane and butane. By serial transfers in the mineral carbonless medium in the atmosphere of gaseous hydrocarbons the three mentioned associations could be trained to grow easily in this conditions. The incubation period was then distinctly shortened (Table II and III).

The optimal growth temperature of associations was determined (Table V).

The bacterial associations were also incubated in specially constructed field incubators, placed in 3 m deep bore-holes. The growth was observed only in the incubators placed in bore-holes situated in the oil-fields.

LITERATURA

1. Blau L. W., 1942: Process for locating valuable subterrenean Deposits *US Patent Off.* nr 2 269 889.
2. Bokowa E. N., Kuźniecowa, Kuźniecow, 1947: Okislenije gazoobraznych uglewodorodow bakterijami, kak osnowa mikrobiołogiczeskoj razwiedki na nieft. *DAN. SSRR,* **56** : 755.
3. Bokowa E. N., 1954: Okislenije etana i propana niekotorymi widami mikobakterii. *Mikrobiołogija,* **23** : 1.
4. Dostalek M., 1953: Uhlovodikove bakterie v pudach naftowych oblasti. Ceskoslovenskà Biologie.
5. Karcew A. A., Tabasaranski Z. A., Subbota M. I. i Mogilewski G. A., 1954: Geochimiczeskije mietody poiskow i razwiedki nieftianych i gazowych miestorożdenii, Moskwa, Gostoptechizdat.
6. Luchter A., 1952: Geomikrobiologia w przemyśle naftowym. *„Nafta"* nr 8.
7. Luchter A., 1953: Poszukiwanie złóż ropy naftowej przy pomocy metody mikrobiologicznej. *„Nafta"* 1954.

8. Luchter A., 1954: Próba zastosowania bakterii wskaźnikowych dla terenów roponośnych. *Prace Inst. Naft. Seria A*, nr 34, Stalinogród.
9. Mogilewski G. A., 1940: Bakterialnyj mietod razwiedki na nieft i prirodnyje gazy. Razwiedka Niedr. Moskwa.
10. Mogilewski G. A., 1947: Diesiat' let geomikrobiołogiczeskoj razwiedki. Razwiedka Niedr. Moskwa.
11. Sanderson R. T., 1942: Geomicrobiological Prospecting. *US Patent Off.*, nr 2 294.
12. Schwartz u. Müller, 1953: Geomikrobiologie, Entwicklung u. Stand eines neuen Forschungsgebiete: *Erdöl u. Kohle*, **9**.
13. Söhngen N. L., 1906: Über Bacterien, welche Methan als Kohlenstoffnährung und Energiequelle gebrauchen. *Zentr. Bakter. II*, **15** : 513.
14. Taggart M. S., 1941: Oil Prospecting Method. *US Patent Off.*, nr 2, 234, 637.

H. Oberman

ZAPOTRZEBOWANIE POKARMOWE PIĘCIU SZCZEPÓW BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ

Z Zakładu Mikrobiologii Technicznej Politechniki Łódzkiej w Łodzi
Wpłynęło dnia 2.VI.1955 r.

Wśród badań nad metabolizmem drobnoustrojów liczne prace z okresu ostatniego dwudziestolecia charakteryzują ich zapotrzebowanie pokarmowe na tzw. czynniki wzrostowe. W wyniku ustalono minimalny poziom niektórych witamin a także aminokwasów i pewnych pierwiastków śladowych niezbędnych dla normalnego wzrostu szeregu gatunków drożdży, bakterii, pleśni i glonów.

Szczególnie wrażliwe na brak w podłożu, głównie witaminów z grupy *B*, są bakterie fermentacji mlekowej.

W grupie bakterii fermentacji mlekowej najlepiej poznano wymagania wzrostowe pałeczek mezofilnych z rodzaju *Lactobacillus*, które używane są do mikrobiologicznych oznaczeń witaminów (O s t r o w s k i, 1954).

Celem pracy było scharakteryzowanie wymagań pokarmowych:

1. Dwóch typów *Thermobacterium Delbrücki* mających różne zastosowanie przemysłowe i wykazujących pewne różnice morfologiczne i biochemiczne. Typ melasowy stanowi odmianę szczepu zbożowego *Th. Delbrücki* (M a j c h r z a k 1935).

2. Paciorkowców aromatyzujących fermentacji mlekowej ze szczególnym uwzględnieniem *Streptococcus diacetilactis*, mającego zastosowanie w przemyśle mleczarskim (M a t u s z e w s k i, P i j a n o w s k i, S u p i ń s k a, 1936).W dostępnej literaturze nie znaleziono do r. 1955 żadnych opracowań dotyczących zapotrzebowania pokarmowego tego szczepu.

METODYKA BADAŃ

Oznaczenia prowadzono na kompletnym podłożu Robertsa i Snella. Źródłem aminokwasów był enzymatyczny hydrolizat kazeiny przygotowany według C o n n o r - J o h n s o n a (1946). Roztwory zasad purynowych i pirymidynowych, witaminów, oraz soli mineralnych przygotowywano według B a r t o n - W r i g h t a (1946).

Porównawczo zbadano zachowanie się 2-ch szczepów *Th. Delbrücki* oraz *Str. diacetilactis* na podłożu, w którym zastąpiono hydrolizat ka-

zeiny peptonem i autolizatem drożdżowym, pozbawionymi witaminów B_1, B_2 oraz kwasu pantotenowego (B a r t o n - W r i g h t, 1945). Brak wzrostu badanych szczepów na podłożu kontrolnym bez witaminów z grupy *B* upoważniał do przeprowadzenia oznaczeń podobnie jak na podłożu z hydrolizatem kazeiny.

Cykl badań obejmował:

a) podłoże kompletne, zawierające wszystkie witaminy z grupy *B*,

b) podłoże bez witaminów,

c) 8 podłoży wolnych od witaminów, których wpływ badano.

Wyniki ustalono po przeprowadzeniu czterech cyklów badań w 2-ch równoległych powtórzeniach na podłożu z hydrolizatem kazeiny i dwóch cyklów — na podłożu „peptonowym".

Dla jednego szczepu przeprowadzono średnio około 100 oznaczeń. Pożywki rozlewano po 10 ml. i sterylizowano przy 0,7 atm. (O s t r o w s k i, 1954).

Badane szczepy przeszczepiano z macierzystej pożywki stałej, na której były przechowywane (B a r t o n - W r i g h t, 1946), na taką samą pożywkę płynną. Po 24 godz. hodowli w temperaturze optymalnej dla danego szczepu, komórki odwirowywano przy około 2500 obr. na min. Osad komórek przemywano sterylizowanym roztworem soli fizjologicznej. Po czterokrotnym odwirowaniu i przemyciu osadu, komórki zawieszano w 10 ml sterylizowanej wody destylowanej i dwiema kroplami tak przygotowanej zawiesiny zaszczepiano podłoża.

Hodowlę *Th. Delbrücki* prowadzono w 48°, paciorkowców aromatyzujących fermentacji mlekowej — w 30°.

Po 72 godz. hodowli oznaczano miareczkowo przyrost kwasowości 0,1 n NaOH wobec błękitu bromotymolowego.

Wszystkie oznaczenia prowadzono w dwóch powtórzeniach.

Na podłożu z hydrolizatem kazeiny wyniki ustalono po przeprowadzeniu 4-ch pełnych cyklów badań, na podłożu „peptonowym" — po 2-ch częściowych cyklach.

Pochodzenie badanych szczepów:

a) *Th. Delbrücki* wyizolowano w naszej pracowni z zacieru pochodzącego z fabryki kwasu mlekowego, pracującej na roztworach melasowych (typ melasowy), oraz z surowej kultury otrzymanej na drodze samofermentacji kiełków słodowych w 50°, zalanych roztworem sacharozy i stosowanej w fabryce spożywczego kwasu mlekowego (typ zbożowy).

Wstępna, porównawcza diagnostyka tych szczepów wykazała różnice w wyglądzie kolonii na płytce po 48 godz. oraz w ich aktywności, gdyż typ melasowy powodował szybszy przebieg fermentacji;

b) *Str. diacetilactis* został wyodrębniony przed czterema laty z twarogu przez S u p i ń s k ą - J a k u b o w s k ą (1953). Od trzech lat był przechowywany w stanie wysuszonym w atmosferze N_2. Systematyczna kontrola wykazywała normalny wzrost i aktywność kultury;

c) paciorkowce aromatyzujące fermentacji mlekowej oznaczone *Ar 20* i *Ar 21* wyodrębnione zostały bezpośrednio przed rozpoczęciem badań w 1953 r.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

W tab. I zestawiono względną aktywność witaminów grupy *B* w stosunku do 5 szczepów bakterii fermentacji mlekowej. Oznaczenia przyjęto za R u s s e l i in. (1954), zachowując oryginalne nazwy symboli. Za 100% przyjęto wzrost na podłożu kompletnym.

Witaminami zasadniczymi („essential") nazwano czynniki wzrostowe, przy braku których następowało zahamowanie wzrostu w granicach 0% do 25% w stosunku do wzrostu na podłożu pełnym.

Zahamowanie wzrostu o około 50% w porównaniu z rozwojem na podłożu kompletnym uzyskiwano w nieobecności witaminów — stymulatorów. Witaminami neutralnymi nazwano związki, których nieobecność w podłożu nie hamowała rozwoju drobnoustrojów.

Tabela I

Względna aktywność witaminów grupy *B* dla 5 badanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej

Относительная активность витаминов группы „B" для 5 штаммов молочнокислых бактерий

Vitamin requirements of 5 strains of lactic acid bacteria

Witamin / Szczep	B_1		B_2		B_6		kw. nikotynowy		kw. pantotenowy		kw. foliowy		kw. p-aminobenzoesowy		biotyna	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
Th. Delbrücki (melas.)	N	N	E	E	S	S	E	E	E	E	E	E	N		E	
Th. Delbrücki (zboż.)	N	N	E	E	E	S	E	E	E	E	E	S	S	S	S	S
Str diacetilactis	S	N	N	N	S	N	E	E	E	E	N	N	S	N	N	N
Ar-20	S		S		S		E		E		S		S		S	
Ar-21	S		S		S		E		E		E		E		E	

II — podłoże z peptonem i autolizatem drożdżowym
I — podłoże z hydrolizatem kazeiny

E — witamin „neutralny"
S — witamin „stymulator"
N — witamin „zasadniczy"

Z zestawienia tego wynika, że bezwzględnie zasadniczymi czynnikami wzrostowymi dla badanych szczepów był kwas pantotenowy i kwas nikotynowy.

Typ melasowy *Th. Delbrücki* nie rósł przy braku w podłożu riboflawiny, pirydoksyny, kwasu foliowego i biotyny.

Typ zbożowy tego szczepu nie rozwijał się w nieobecności: ribofla-

winy, pirydoksyny, kwasu foliowego, kwasu p-aminobenzoesowego i biotyny. Oba szczepy nie wymagały do wzrostu tiaminy.

Świeżo wyizolowane paciorkowce aromatyzujące fermentacji mlekowej rosły słabo w nieobecności któregokolwiek bądź witaminu grupy *B*. Przy braku w podłożu kwasu nikotynowego i kwasu pantotenowego nie rosły wcale.

W odróżnieniu od tych szczepów *Str. diacetilactis* charakteryzował się zdolnością syntetyzowania riboflawiny, kwasu foliowego i biotyny.

Na podłożu I (z hydrolizatem kazeiny) i II (z peptonem i autolizatem drożdżowym) zauważono pewne różnice w aktywności witaminów dla niektórych szczepów. Dla typu zbożowego *Th. Delbrücki* pirydoksyna była witaminem zasadniczym na podłożu I, stymulatorem wzrostu — na podłożu II.

Str. diacetilactis na podłożu I bez tiaminy, pirydoksyny i kwasu p-aminobenzoesowego rósł słabo, na podłożu II bez tych składników nie rósł zupełnie.

Wydaje się, że odchylenia te możnaby tłumaczyć odmiennym składem aminokwasowym podłoży.

Oznaczając znakiem „+" witaminy zasadnicze i stymulatory wzrostu, znakiem „—" witaminy neutralne (tab. II) stwierdzono, że największą ilość witaminów do swego rozwoju potrzebują paciorkowce aromatyzujące fermentacji mlekowej świeżo wyodrębnione z kefiru. *Str. diacetilactis* przechowywany 3 lata w stanie wysuszonym wyróżniał się brakiem zapotrzebowania na riboflawinę, kwas foliowy i biotynę.

Tabela II

Zapotrzebowanie na witaminy z grupy *B* pięciu szczepów bakterii fermentacji mlekowej

Питательные потребности 5 штаммов молочнокислых бактерий на витамины группы B.

Vitamin B requirements of 5 strains of lactic acid bacteria.

	B_1	B_2	B_6	kw. nikotynowy	kw. pantotenowy	kw. p-aminobenzcesowy	kw. foliowy	biotyna
Th. Delbrücki (melas.)	—	+	+	+	+	—	+	+
Th. Delbrücki (zbcż.)	—	+	+	+	+	+	+	+
Str. diacetilactis	+	—	+	+	+	+	—	
Ar-20	+	+	+	+	+	+	+	+
Ar-21	+	+	+	+	+	+	+	+

Różnica między szczepem zbożowym a melasowym *Th. Delbrücki* uwidoczniła się w zapotrzebowaniu na kwas p-aminobenzoesowy. Szczep melasowy do swego rozwoju nie potrzebował tego czynnika wzrostowego. Dla szczepu zbożowego kwas p-aminobenzoesowy był stymulatorem wzrostu.

Ciekawe okazały się wyniki badań przeprowadzonych na podłożu „peptonowym" z dodatkiem tylko jednego witaminu: B_1, B_2 lub kwasu pantotenowego.

Zestawienie wyników przytoczono w tab. III.

Tabela III

Wzrost 3 szczepów bakterii fermentacji mlekowej na podłożu z dodatkiem 1 witaminu

Рост 3 штаммов молочнокислых бактерий на среде с добавкой 1 витамина

Growth of 3 strains of lactic acid bacteria in semi-synthetic medium with only one vitamin of group *B* added.

Szczep	Rodzaj podłoża				
	pełne	bez witaminów	+ B_1	+ B_2	+ kw. pantotenowy
Th. Delbrücki (melas.)	++	−	−	+	+
Th. Delbrücki (zboż.)	++	−	−	+	−
Str. diacetilactis	++	−	+	+	+

Na podłożu pełnym zawierającym wszystkie witaminy grupy *B* uzyskano normalny wzrost 3-ch badanych szczepów. Na podłożu pozbawionym witaminów wzrostu nie było. Na pożywkach zawierających pojedyncze witaminy poszczególne gatunki zachowywały się różnie. Typ melasowy *Th. Delbrücki* rósł w obecności riboflawiny lub kwasu pantotenowego, typ zbożowy tego gatunku rozwinął się jedynie w obecności riboflawiny, a *Str. diacetilactis* rósł na podłożach zawierających którykolwiek z trzech wymienionych witaminów. Wzrost drobnoustrojów w tych próbach był słabszy o około 50% od wzrostu na podłożu kompletnym.

DYSKUSJA WYNIKÓW

U pięciu badanych szczepów bakterii fermentacji mlekowej stwierdzono zapotrzebowanie na kwas pantotenowy i nikotynowy. Okazało się to zgodne z wynikami prac Orla-Jensena (1942), Nivena (1943), Shankman, Block, Merifield i Dunna

(1947), Russela, Bhandari, Walkera (1954), dotyczącymi innych szczepów bakterii tej grupy, oraz Snella (1950), który m. in. badał *Th. Delbrücki.*

Orla-Jensen (1942) ustalił, że riboflawina jest niezbędna lub przynajmniej stymuluje wzrost większości bakterii mlekowych. Snell (1950) na 21 szczepów badanych znalazł 7 wymagających dla wzrostu obecności tego czynnika wzrostowego. Snell i Strong (1939, wg Stephenson 1947) wykazali, iż riboflawina jest niezbędna dla *Th. Delbrücki,* co potwierdziły obecne badania (tab. II).

Wbrew danym z literatury (Shankman i inni 1947, Russel i inni 1954) wykazano stymulację wzrostu czterech z pośród badanych szczepów przez dodatek do podłoża kwasu p-aminobenzoesowego. Isbell (1942) stwierdził zapotrzebowanie na ten witamin jedynie u *L. arabinosus 17-5,* a Pennington (wg Russel i inni 1954) — u *Leuconostoc mesenteroides P-60.*

Reakcja poszczególnych szczepów na dodatek kwasu foliowego i biotyny, według wspomnianych już prac Shankmana i Russela, jest różna. Russel przypuszcza, że niezdolność do syntezy tych witaminów jest charakterystyczna dla szczepów pochodzących z produktów mlecznych. Pogląd ten mógłby znaleźć uzasadnienie w mojej obserwacji, według której dwa szczepy paciorkowców aromatyzujących świeżo wyosobnione z kefiru nie rosną przy braku tych czynników wzrostowych (Tab. II).

Tittsler, Pederson, Snell, Hendlin i Niven (1952) sądzą, iż wobec udziału pirydoksyny w mechanizmie syntezy aminokwasów zapotrzebowanie na ten czynnik wzrostowy zależne jest od składu aminokwasowego podłoża. Gostiew (1951) wykazał, że w podłożu zawierającym wszystkie niezbędne aminokwasy pirydoksyna nie jest niezbędnym składnikiem dla bakterii mlekowych.

Stymulację wzrostu 4-ch szczepów przy dodaniu witaminu B_6 do podłoża oraz brak wzrostu typu zbożowego *Th. Delbrücki* na podłożu nie zawierającym tego czynnika możnaby tłumaczyć zatem niedoborem pewnych aminokwasów w podłożu, powstającym w czasie przygotowywania enzymatycznego hydrolizatu kazeiny.

Wymagania pokarmowe odnośnie tiaminy w grupie omawianych bakterii mogą być różne. Potwierdza to Orla-Jensen (1942) oraz Snell (1950), który na 21 badanych szczepów u 18 nie stwierdził zapotrzebowania na ten czynnik wzrostowy.

Wykazano niejednakowe zapotrzebowania pokarmowe dwóch szczepów *Th. Delbrücki,* różniących się pochodzeniem, oraz jednakowe wymagania w stosunku do witaminów z grupy *B* u paciorkowców aromatyzujących fermentacji mlekowej, świeżo wyosobnionych z kefiru (tab. I). Potwierdza to pogląd Russela i in. (1954), według których drobnoustroje pochodzące z tego samego środowiska odznaczają się podobnymi wymaganiami pokarmowymi, oraz wniosek Snella (1950), który zauważył, że zapotrzebowanie pokarmowe tego samego gatunku może się różnić zależnie od pochodzenia szczepu.

Г. Оберман

ПИЩЕВЫЕ ПОТРЕБНОСТИ НА ВИТАМИНЫ ГРУППЫ „В" 5 ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Резюме

Исследовано ростовые факторы 2-х промышленных штаммов *Thermobacterium Delbrücki* (типы мелассовый и зерновой), а также 3-х штаммов ароматизирующих стрептококков молочнокислого брожения: *Str diacetilactis* после трехгодовом хранении в высушенном виде и штаммов обозначенных Ar-20 и Ar-21, только что выделенных из кефира.

Основными ростовыми факторами 5 штаммов оказались никотиновая и пантотеновая кислоты (табл. 1). Мелассовый тип *Th. Delbrücki* отличается от зернового потребностью р-аминобензойной кислоты. Оба штамма не нуждались в тиамине (табл. 2).

Хранимый в высушенном виде *Str. diacetilactis* обладал способностью синтезировать витамины: рибофлавин, биотин и фолиевую кислоту (табл. 2).

Изолированные из кефира штаммы Ar-20 и Ar-21 нуждались во всех витаминах (табл. 1).

Исследуемые штаммы хорошо растут на синтетических средах с добавлением лишь одного основного витамина (табл. 3).

H. Oberman

VITAMIN REQUIREMENTS OF FIVE STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA

Summary

Author studied the vitamin requirements of two strains of *Thermobacterium Delbrücki* (molasses type and corn type), one strain of *Streptococcus diacetilactis* and two strains of streptococci (*Ar-20* and *Ar-21*) isolated from kefir.

It was shown that nicotinic and panthotenic acid are essential for all five tested strains (Table I).

There was a difference in vitamin requirements between two strains of *Th. Delbrücki*, the molasses type required PABA for growth (Table II).

Str. diacetilactis (strain from the Department's collection, stored for three years in the dried state) grew quite well on the media without riboflavine, biotine and pteroylglutamic acid.

In this respect two strains of streptococci isolated from kefir were more exacting. Their growth was observed only in the complete medium containing all tested vitamins *B* (Table II).

When only one of the used vitamins was added to the semi-synthetic medium — the growth of all examined strains was noted (Table III).

LITERATURA

1. Barton-Wright E. C., 1946: wg Snell E. E. 1950: t. I.
2. Barton-Wright E. C., 1946: Practical methods for the microbiological assay of the vitamin *B* complex and essential amino acids. Ashe Laboratories, 2. Ltd.
3. Connor-Johnson B., 1946: Methods of Vitamin Determination, Minneapolis.
4. Gostiew S., 1951: Biochimiczeskije osnowy medicinskoj bakteriologii Miedgiz, Moskwa.

5. Isbell, 1942: wg Russel et al. 1954.
6. Majchrzak R., 1935: Technika fermentacji mlekowej melasu (praca magisterska z Zakładu Mikrobiologii i Przemysłu Rolnego SGGW w Warszawie).
7. Matuszewski T., Pijanowski E., Supińska J., 1936: *Streptococcus diacetilactis n. sp.* i jego zastosowanie przy wyrobie masła. Prace i Sprawozdania Inst. Ferm. i Zakł. Mikr. Roln. i Przem. Roln. SGGW, W-wa.
8. Roberts E. C., Snell E. E., 1946: An improved medium for microbiological assays with *Lactobacillus casei. J. Biol. Chem.* **163** : 499.
9. Orla-Jensen S., 1942: The Lactic Acid Bacteria, Kobenhavn.
10. Ostrowski Wł., 1954: Metody mikrobiologiczne w analizie chemicznej, *Acta Microbiol. Polon.* **3** : 34.
11. Pennington, wg Russel et al. 1954.
12. Russel C., Bhandari R. R., Walker D. K., 1954: Vitamin requirements of thirty four lactic Acid Bacteria associated with brewery products. *J. Gen. Microbiol.*, **10** : 371.
13. Shankman, Block, Merifield i Dunn, 1947: wg Russel et al. 1954.
14. Snell E. E. 1950: Microbiological methods in Vitamin Research, w: Vitamin Methods t. I. Academic Press Inc. Publ. New York.
15. Supińska-Jakubowska J., 1953: Wytwarzanie acetoiny przez *Str. diacetilactis, Acta Microbiol. Polon.*, **1** : 151.
16. Stephenson M., 1947: (tłum. ros.) Metabolizm bakterii. Moskwa, 1951.
17. Tittsler R. P., Pederson S., Snell E. E., Hendlin D., Niven Ch. F., 1952: Symposium on the Lactic Acid Bacteria. *Bact. Rev.*, **16** : 227.

BIBLIOGRAFIA POLSKIEJ MIKROBIOLOGII GLEBOWEJ LATA 1953 I 1954

БИБЛИОГРАФИЯ ПОЧВЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ В ПОЛЬШЕ 1953 и 1954 г.

INDEX OF POLISH SOIL-MICROBIOLOGICAL LITERATURE FOR THE YEARS 1953 AND 1954

zebrała *J. Strzemska*
Dział Mikrobiologii IUNG w Puławach
Wpłynęło 21 kwietnia 1955 r.

ROK 1953

I. MIKROFLORA I MIKROFAUNA GLEBY

1. B a l i c k a N.: Studia nad wpływem uprawy roli na własności fizyczne gleby, na rozwój mikroflory i na wysokość plonów.
   Исследования влияния возделывания почв на их физические свойства, на развитие микрофлоры и прирост урожая.
   Studies on the Influence of Soil Tillage on the Physical Properties of the Soil, the Development of Microflora and Crop Yields. **R.** *Roczn. Nauk Roln.*, **66**, *Seria A. Rośl.* Z. 3. Warszawa 1953, str. 137—138.
2. B a l i c k a N.: Wpływ stopnia wilgotności gleby w momencie jej uprawy na własności fizyczne i mikroflorę.
   Влияние степени влажности почвы во время обработки на ее физические свойства и микрофлору.
   The influence of the humidity of the soil in the moment of its tillage upon the physical properties of the soil and its microflora. **K.** *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 2—3, Warszawa 1953, str. 155.
3. K u n i c k i - G o l d f i n g e r W., K o w a l s k a J., S a b b o M.: Bodendiphteroiden I. Morphologie und Wachstumseigenschaften. Dyfteroidy glebowe I. Morfologia i własności wzrostowe.
   Почвенные дифтероиды. I. Морфология и свойства роста.
   R. *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 4, Warszawa 1953, str. 277—283.
4. K u n i c k i - G o l d f i n g e r W., S t a c h a l W. i U r b a ń s k a M.: Bodendiphteroiden II. Cytologie. Dyfteroidy glebowe II. Cytologia.
   Почвенные дифтероиды. II. Цытология.
   R. *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 4, Warszawa 1953, str. 287—292.
5. K u ź n i a r K.: Wpływ styku z lasem na mikroflorę gleb uprawnych. Влияние леса на микрофлору смежных пахотных земель.

The influence of Forest Contiguity on the Microflora of Cultivated Soils. **K.** *Roczn. Nauk Roln.*, **66**, *Ser. A. Rośl.*, 2, Warszawa 1953, str. 190.

6. Kuźniar K: Energia rozkładu błonnika w glebach leśnych.
Скорость разложения клетчатки в лесных почвах.
The Energy of Decomposition of Cellulose in Forest Soils. **K.** *Roczn. Nauk Roln.*, **66**, *Ser. A. Rośl.* 3. Warszawa 1953, str. 148—149.
7. Kuźniar K.: Wpływ ukształtowania terenu na aktywność biologiczną lessowych gleb uprawnych.
Влияние рельефа местности на биологическую активность возделываемых лессовых почв.
The influence of the Terrain Configuration on the Biological Activity of Cultivated Loess Soils. **K.** *Roczn. Nauk Roln.*, **66**, *Ser. A. Rośl.*, Warszawa 1953, str. 149.
8. Kuźniar K.: Wpływ styku lasu na mikroflorę gleb uprawnych. The influence of the Forest Border upon the Microflora of Cultivated Soils. **R.** *Ekologia Polska*, **1**, 3, Warszawa 1953, str. 17—39.
9. Kuźniar K.: Energia rozkładu błonnika w strefie styku pola uprawnego z lasem.
The Energy of Cellulose Decomposition in the Soils of the Border of Cultivated Field and Forest. **R.** *Ekologia Polska*, **1**, 3, Warszawa 1953, str. 41—53.
10. Ziemięcka-Marszewska J.: Wpływ siedliska na drobnoustroje glebowe. **A.** *Kosmos*, **2**, 1(2), Warszawa 1953, str. 4—11 .

II. MIKROFLORA KORZENIOWA

MIKORYZA

11. Czaplińska S.: Dynamika rozwojowa mikoryzy u topinambura i słonecznika. Untersuchungen über die Entwicklung der *Helianthus* — Mykorrhizen. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.*, **22**, 1, Warszawa 1953, str. 129—132.
12. Dominik T.: Mykotrofizm rodziny traw (*Gramineae*). **R-z.** *Post. Wiedzy Roln.*, **5**, 3, Warszawa 1953, str. 36—47.
13. Nespiak A.: Badanie mykotrofizmu roślinności alpejskiej ponad granicą kosodrzewiny w granitowych Tatrach. Mycotrophy of the alpine vegetation of the Tatra Mountains. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 1, Warszawa 1953, str. 97—125.
14. Pachlewski R.: Badania mykotrofizmu siewek modrzewia polskiego i sudeckiego w naturalnych i sztucznych warunkach rozwoju. Mycotrophy of the seedlings of *Larix polonica* and *sudetica* in natural and artificial conditions. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 1, Warszawa 1953, str. 133—168.
15. Pachlewski R. i Gągalska J.: Badania mykotrofizmu dębów na terenie Polski z uwzględnieniem warunków bioekologicznych. Untersuchungen über den Mykotrophismus der polnischen Eichen in verschiedenen Lebensbedingungen. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 3, Warszawa 1953, str. 561—576.
16. Strzemska J.: Zagadnienie mikoryzy u zbóż. Cz. III. Pszenica.
Образование микорызы у хлебных злаков. III Пшеница.
The mycorrhiza of corn plants. P. III. Wheat. **R.** *Acta Microbiol. Polon.* **2**, 4. Warszawa 1953, str. 297—306.
17. Truszkowska W., Kopeć A. i Halicka E.: Dynamika rozwojowa mikoryzy u kukurydzy i końskiego zębu. La dynamique du developpement des mycorrhizes observées chez les quatres variétés de *Zea mais*. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 1, Warszawa 1953, str. 65—76.

III. SZCZEPIONKI DLA ROŚLIN

a) Motylkowych

18. K ł o s o w s k a T.: Rozwój symbiozy *Rhizobium leguminosarum* z grochem. Развитие симбиоза *Rizobium leguminosarum* с горохом.
The development of symbiosis between *Rhizobium leguminosarum* and peas. **K.** *Roczn. Nauk Roln.* **66**, *Ser. A. Rośl.* Warszawa 1953, str. 189—190.

b) Niemotylkowych

19. B a l i c k a N.: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych.
Влияние заражения азотобактером небобовых растений на их урожайность.
The influence of inoculation with *Azotobacter* on the yields of non-leguminous plants. **R.** *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 4, Warszawa 1953, str. 307—318.
20. M a l i s z e w s k a W.: Szczepienie roślin azotobakterem. Inoculation of Plants with *Azotobacter*. **R.** *Roczn. Nauk Roln.* **68**, *Ser. A. Rośl.* Warszawa 1953, str. 33—51.
21. M a l i s z e w s k a W.: Wpływ szczepienia azotobakterem na plony roślin niemotylkowych.
Влияние введения азотобактера на урожай небобовых растений.
The influence of inoculation with *Azotobacter* on the yields of non-leguminous plants. **R.** *Acta Microbiol. Polon.* **2**, 1, Warszawa 1953, str. 58—68.

IV. RÓŻNE

22. B a l i c k a N.: Mikroflora kiełkujących nasion tymotki i koniczyny czerwonej. **K.** *Sprawozd. PAU* (Kraków), **53**, 1, Kraków 1953, str. 48.
23. F i u c z e k M.: O działaniu antybiotycznym metabolitów bakterii gnilnej, bezsporowej, rodzaju *Proteus*. The antibiotic activity of the metabolites of the putrefactive bacterium genus *Proteus*. **R.** *Sprawozd. posiedz. Wydz. IV Nauk Biol. Tow. Nauk. Warsz.* **43**, Warszawa 1953, str. 93—113.
24. J a n i c k i J., P a w e ł k i e w i c z J., S t a w i c k i S. i Z o d r o w K.: Spektrofotometryczna metoda oznaczania witaminy B_{12} w hodowlach drobnoustrojów. Spectrophotometric Method of Determining Vitamin B_{12} in Cultures of Microorganisms. *Przemysł Chem.* **9**, 10. Warszawa 1953, str. 509—511.
25. K u ź n i a r K.: O jednostkach porównawczych w mikrobiologii gleby. О сравнительных единицах в микробиологии почв.
Comparable units in the soil microbiology. **K.** *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 2—3, Warszawa 1953, str. 154.
26. K u ź n i a r K.: O przyrodniczych podstawach obliczania ilości drobnoustrojów w glebie. About the natural basis of quantitative estimation of soil microorganisms. **R.** *Ekologia Polska*, **1**, 1, Warszawa 1953, str. 57—66.
27. L i t y ń s k i T. i J u r k o w s k a H.: Glaukonit jako źródło potasu dla kropidlaka czarnego (*Aspergillus niger*).
Глауконит как источник калия для *Aspergillus niger*.
Glauconite as a potassium source for *Aspergillus niger*. **R.** *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 1. Warszawa 1953, str. 44—57.
28. L u c h t e r o w a A.: Geomikrobiologia w przemyśle naftowym.
Геомикробиология в нефтяной промышленности.
Geomicrobiology in the oil industry. **K.** *Acta Microbiol. Polon.* **2**, 2—3. Warszawa 1953, str. 151—153.

29. O b o j s k a K.: Rozkład węglowodorów nasyconych i nienasyconych przez mykobakterie saprofityczne.
Разложение насыщенных и ненасыщенных углеводородов сапрофитическими микобактериями.
The breakdown of saturated and unsaturated hydrocarbons by saprophytic mycobateria. **K.** *Acta Microbiol. Polon.*, **2**, 2—3. Warszawa 1953, str. 129—132.
30. R o d k i e w i c z B.: Action de phytoncides volatiles sur les *Myxomycetes*. **K.** *Bull. Soc. Sci. et Lettr. de Łódź. Cl. 3*, **4**, 8. Łódź, 1953, stron 3.
31. S k u p i e ń s k i Fr. Ks.: Action antagoniste de *Penicillium sp.* sur le developpement de certains champignons destructeurs du bois. I. **R.** *Bull. Soc. Sci. et Lettr. de Łódź, Cl. 3*, **4**, 14, Łódź 1953, stron 4.

V. PODRĘCZNIKI

32. M a k o w e r H.: Swiat bakterii. Str. 152. PZWS, Warszawa 1953.
33. S m y k B.: Zarys mikrobiologii praktycznej. Skrypt powielany. Stron 118. PWN, Kraków 1953.
34. W i n o g r a d s k i S.: Mikrobiologia gleby. Zagadnienia i metody. Zbiór prac naukowych. Przekład zbiorowy z franc. pod redakcją J. Z i e m i ę c k i e j Stron 844, PWRiL, Warszawa 1953.
35. Z o d r o w K.: Mikrobiologia ogólna z ćwiczeniami. Skrypt. Wyd. II (powielane). Str. 134. PWN, Poznań 1953.

ROK 1954

I. MIKROFLORA I MIKROFAUNA GLEBY

1. B a l i c k a N.: Wpływ zespołu uprawek wiosennych pod rośliny późnego siewu na fizykalne i mikrobiologiczne własności roli i jej plonowanie. Część I.
Влияние комплекса весенных агротехнических приемов под растения позднего сева на физические и микробиологические свойства почвы и на ее урожайность.
The influence of spring soil cultivation complexes for late seedings on the physical and microbiological properties of the soil and its fertility. Part I. **R.** *Roczn. Nauk Roln.* **70**, 1. *Ser. A. Rośl.*, Warszawa 1954, str. 51—63.
2. B a l i c k a N.: Wpływ głębokości orki w zespole uprawek zimowych na ilość mikroflory w glebie i plony roślin. Cz. II.
Влияние глубины зяблевой вспашки на количество почвенной микрофлоры и урожай растений. ч. II.
The influence of the depth of plowing in winter cultivation complexes on the quantity of soil microflora and on plant yields. Part II. *Roczn. Nauk. Roln.*, **70**, 1, *Ser. A Rośl.*, Warszawa 1954, str. 65—75.
3. B r z e z i ń s k a - D u d z i a k B.: Oznaczanie ilości ameb w glebie wg zmodyfikowanej metody Singha.
Определение количества амёб в почве по видоизмененному методу Сингa.
Soil amoebae counting by the modified dilution technique of Singh. **K.** *Acta Microbiol. Polon.*, **3**, 2. Warszawa 1954, str. 121—124.
4. D o b r o w o l s k i J.: Wpływ płodozmianu łąkowo-polowego na nitryfikację i denitryfikację na glebach gosp. Osiny.

Влияние севооборота Вильямса на нитрификацию и денитрификацию в почвах хозяйства Осины.
The influence of the rotation of Wiliams on the nitryfying and denitrifying power of the soils in Osiny. **K.** *Roczn. Nauk Roln.*, **70**, *Ser. A Rośl.* **1**, Warszawa 1954, str 148—149.

5. Jędrzejewska A.: Mikroflora gleb w płodozmianie Wiliamsa.
Микрофлора почв в севообороте Вильямса
The microflora of soils in the Wiliams rotation. **K.** *Roczn. Nauk. Roln.*, **70**, Ser. A *Rośl.* 1, Warszawa 1954, str. 148.

6 Krzemieniewska H. i Badura L.: Z badań nad mikoflorą lasu bukowego. Some observation on the mycoflora of beech woods. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **23**, 3, Warszawa 1954, str. 545—587.

7 Krzemieniewska H. i Badura L.: Przyczynek do znajomości mikroorganizmów ściółki i gleby lasu bukowego. A contribution to the Knowledge of microorganisms from the litter and soil of the beech-wood. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **23**, 4, Warszawa 1954, str. 727—781.

8 Kunicki-Goldfinger Wł., Dygdała K., Tuszyńska B. i Dolężko H.: Bodendiphteroiden. Teil III. Physiologische Eigenschaften und Systematic. Dyfteroidy glebowe Cz. III. Własności fizjologiczne i klasyfikacja. Почвенные дифтероиды III. физиологические свойства и классификация. **R.** *Acta Microbiol. Polon.*, **3**, 2, Warszawa 1954, str. 93—112.

9 Kuźniar K.: Wpływ ukształtowania terenu na aktywność biologiczną lessowych gleb uprawnych. The influence of the relief upon the biological activity of cultivated loess soils. **R.** *Ekologia Polska* **1**, 4, Warszawa 1954, str. 31—55.

10. Kuźniar K.: Rozkład błonnika przez drobnoustroje w glebie leśnej w okresie zimowym.
Cellulose decomposition by the microorganisms in forest soil in winter. **K.** *Ekologia Polska* **1**, 4, Warszawa 1954, str. 137—140.

11. Margowski Z.: Kilka spostrzeżeń nad występowaniem bezkręgowej fauny glebowej w zależności od szaty roślinnej.
Несколько наблюдений над появлением почвенной фауны безпозвоночных в зависимости от растительного покрова.
Some observations concerning the influence of vegetation on the presence of invertebrate soil-fauna. **R.** *Rocz. Gleboznawcze*, **3**, Warszawa 1954, str. 314—322.

12. Ostrowski W., Skarżyński B. i Szczepkowski T. W.: Biochemia samożywnych bakterii siarkowych. Cz. II. Witaminy grupy B u *Thiobacillus thioparus i Thiobacillus thiooxydans.*
Биохимия автотрофных серобактерий. II. Витимины группы „B" у *Th. thioparus u Thiobacillus thiooxydans.*
The biochemistry of autotrophic sulphur bacteria. II. The biocatalysers from the Vitamin B group in *Th. thioparus* and *Th. thiooxydans* **R.** *Acta Microbiol. Polon.* 3, 4 Warszawa 1954, str. 351—362.

13 Siedlanowska-Drzas K.: Energia rozkładu błonnika i występowanie asymilatorów wolnego azotu w glebach maj. Osiny w zależności od rodzaju upraw w płodozmianie Wiliamsa.
Энергия разложения клетчатки и выступление ассимиляторов свободного азота в зависимости от культур в севообороте Вильямса.
The influence of the kind of crops in the rotation of Wiliams on the energy of

cellulose destruction and the nitrogen fixing organisms in the soils of Osiny **K.** *Roczn. Nauk. Roln.*, **70**, *Ser. A Rośl.* 1, Warszawa 1954, str. 149.

14. Skupieński Fr. Ks.: Faculté régénératrice du plasmode de *Didymium squamulosum* Fries. Contribution à l'étude catalogique de *Myxomycetes* **R.** *Bull. Soc. Sci. Lettr. de Łódź, Cl.* **3**. **4**, Nr 15, Łódź 1954.
15. Warteresiewicz M.: Charakterystyka mikrobiologiczna niektórych gleb leśnych województwa krakowskiego.
Микробиологическая характеристика некоторых лесных почв Краковского воеводства.
The microbial characteristics of some forest soils of Kraków Province. **R.** *Ekologia Polska* **2**, 1. Warszawa 1954, str. 23—32.

II. MIKROFLORA KORZENIOWA

a) *Ogólna*

16. Sobieszczański J.: Metodyka badania wpływu drobnoustrojów korzeniowych na odżywianie się i rozwój roślin.
Методы изучения влияния корневой микрофлоры на питание и развитие растений
Methods for studying the influence of microflora on the food and growth of the plants **K.** *Roczn. Nauk. Roln.*, **69**, *Ser. A. Rośl.* 3, Warszawa 1954, str. 471—472.
17. Sobieszczański J.: Wpływ drobnoustrojów korzeniowych na odżywianie się i rozwój roślin. **K.** *Roczn. Nauk. Roln.*, **70**, *Ser. A. Rośl.* Warszawa 1954.

b) *Mikoryza*

18. Czapińska St.: Badanie rocznej dynamiki rozwojowej mikoryzy ciemierzycy i zimowita jesiennego.
Untersuchungen der jährlichen Entwicklungsdynamik der Mykorhiza bei *Veratrum album var. lobelianum* Bernh. und *Colchicum autumnale* L. **R.** *Ekologia Polska* **1**, 4. Warszawa 1954, str. 125—135.
19. Dominik T. i Nespiak A.: Badanie mykotrofizmu zespołów roślinnych krainy kosodrzewu w granitowych Tatrach. Untersuchungen über den Mykotrophismus der Pflanzenassoziationen im Krummholzkiefergebiet der Hohen Tatra-Gebirge. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 4. Warszawa 1954, str. 753—770.
20. Dominik T., Nespiak A. i Pachlewski R.: Badanie mykotrofizmu roślinności zespołów na skałkach wapiennych w Tatrach Untersuchungen über den Mykotrophismus der Pflanzenassoziationen der Kalkfelsen im Tatragebirge. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **23**, 3, Warszawa 1954, str. 471—485.
21. Dominik T., Nespiak A. i Pachlewski R.: Badanie mykotrofizmu zespołów roślinnych regla górnego w Tatrach. Untersuchungen über den Mykotrophismus der Pflanzenassoziationen der höchsten Teile der Fichtenwälder im Tatragebirge. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **23**, 3, Warszawa 1954, str. 487—504.
22. Frydman L.: Badanie mykotrofizmu ziemniaków w uprawie. **A-r.** *Post. Nauki Roln.* **1**(6), 1(25), Warszawa 1954, str. 51—59.
23. Pachlewski R.: Badania mykotrofizmu jesiona wyniosłego (*Fraxinus excelsior*) z uwzględnieniem warunków ekologicznych i fitocenotycznych.
Исследования микотрофности ясеня обыкновенного (*Fraxinus excelsior L.*) с учётом экологических и фитоценотических условий.
Untersuchungen über den Mykotrophismus der Esche (*Fraxinus excelsior*) in versch.-

denen ökologischen und pflanzensoziologischen Lebensbedingungen. **R.** *Ekologia Polska*, **2**, 2, Warszawa 1954, str. 151—164.

24. S t r z e m s k a J.: Bibliografia prac z zakresu mikoryzy, lata 1758—1953. Библиографиа микорызы с 1758 по 1953 год.
Index of Literature on Mycorrhiza. *Acta Microbiol. Polon.* **3**, 2, Warszawa 1954, str. 155—194.
25. S t r z e m s k a J.: Przegląd nowych badań nad mikoryzą zbóż. **A.** *Kosmos*, **3**, 5 (10), Warszawa 1954, str. 551—556.
26. T r u s z k o w s k a W.: Mykotrofizm olesów Białowieskiego Parku Narodowego i Domaszyna pod Wrocławiem. Über den Mykotrophismus der Pflanzenassoziationen der Erlenwälder im Nationalpark Białowieża und in Domaszyn bei Wrocław. **R.** *Acta Soc. Bot. Polon.* **22**, 4. Warszawa 1954, str. 737—752.

III. SZCZEPIONKI DLA ROŚLIN

a) *Motylkowych*

27. L e w a n d o w s k a C.: Brodawki na łubinie. **A.** *Wiedza i Życie*. **21**, 5, Warszawa, 1954, str. 320—323.
28. M i e c z y ń s k a - N o w o t n y A. i R u s z k o w s k a M.: Wpływ mineralnego azotu na rozwój roślin motylkowych. Cz. II.
Влияние минерального азота на развитие бобовых растений. Ч. II.
The influence of mineral nitrogen upon the growth of leguminous plants. Part II. **R.** *Acta Microbiol. Polon.* **3**, 4. Warszawa 1954, str. 381—393.

b) *Niemotylkowych*

29. G o l i ń s k a J.: Wyniki prób zaprawiania niemotylkowych roślin warzywnych szczepionką azotobaktera.
Итоги опытов прививки небобовых овощных растений азотобактером.
The effect of inoculation of non-leguminous plants with *Azotobacter* on their crops. **R.** *Roczn. Nauk. Roln.*, **68**, Ser. A. Rośl. 4, Warszawa 1954, str. 613—626.
30. O z i m o w s k a - D ą b r o w s k a I.: Działanie szczepienia azotobakterem na plony niektórych roślin uprawnych.
Влияние прививки азотобактером на урожай некоторых культурных растений.
The effect of *Azotobacter* inoculation on the yields of certain plants **R.** *Rocz Nauk Roln.* **68**, *Ser. A. Rośl.* **4**, Warszawa 1954, str. 565—611.

IV. ROZNE

31. B a l i c k a N.: Zagadnienie samooczyszczania się gleb od drobnoustrojów chorobotwórczych. **A.** *Post. Nauk. Roln.* **1**(6), 1(25), Warszawa 1954, str. 43—50.
32. B a l i c k a N.: Zastosowanie mikrobiologii ekologicznej w gleboznawstwie **A.** *Roczn. Gleboznawcze*, **3**, Warszawa, 1954, str. 228—232.
33. B a l i c k a N. i T r z e b i ń s k i M.: Zawartość witaminy B_2 w glebie jako wskaźnik jej aktywności.
Количество витамина „B_2" как указатель активности почвы.
Vitamin B_2 content as an index of soil activity. **K.** *Roczn. Nauk Roln.*, **70**, *Ser. A. Rośl.* 2, Warszawa 1954, str. 343.
34. B i r e c k a H., D u d a J.; K u ź m i ń s k a K., P ę d z i w i l k Fr.:

Doświadczenia nad wpływem wody amoniakalnej na mikroflorę gleby i na szybkość nitryfikacji amoniaku.
Исследования влияния аммиачной воды на почвенную микрофлору и скорость нитрификации аммиака.
Experiments on the influence of ammonia on the soil microflora and on rapidity of ammonia nitrification. **K**. *Roczn. Nauk Roln.* **69**, *Ser. A, Rośl.* 1, Warszawa 1954, str. 57—64.

35. Błaszczak Wł.: Badania nad skutecznością działania środków dezynfekcyjnych (formalina, sublimat) na żywotność sklerot *Rhizoctonia solani* Kuehn. Эффективность воздействия дезинфектантов (формалин, сулема) на жизнеспособность склероций *Rhizoctonia solani*.
The effect of desinfectants (formaldehyde, mercuric chloride) on the vitality of sclerotia of *Rhizoctonia solani* Kuehn. **R**. *Acta Microbiol. Polon.*, **3**, 1, Warszawa 1954, str. 29—33.
36. Janicki J., Pawełkiewicz J., Stawicki St. i Zodrow K.: Wytwarzanie witaminy B_{12} przez promieniowce z rodzaju *Streptomyces*.
Образование витамина „B_{12}" актиномицетами из рода *Streptomyces*.
Vitamin B_{12} production by *Streptomyces*. **R**. *Acta Microbiol. Polon.* **3**, 1, Warszawa 1954, str. 3—9.
37. Luchterowa A.: Próba zastosowania szczepów bakterii jako wskaźników roponośności terenu. **A**. Nafta, 4, Stalinogród 1954, str. 3.
38. Skibniewski Cz.: W jaki sposób można obliczyć ilość drobnoustrojów. **A**. *Technik Przemysłu Spożywczego*, **3**, 7, Warszawa 1954, str. 16.
39. Strzemska J.: Bibliografia polskiej mikrobiologii glebowej. Lata 1945—1952. Библиография почвенной микробиологии в Польше за время с 1945 по 1952 г. Index of polish agricultural-microbiological literature for the years 1945—1952, *Acta Microbiol. Polon.*, **3**, 1, Warszawa 1954, str. 63—77.
40. Zaleski K. i Golenia A.: Grzyby nadrzewne — pasożyty i saprofity — zebrane w Państw. Nadleśnictwie Kórnik (woj. poznańskie) w latach 1948—1949. Fungi — wood parasites and saprophytes, of state forests Kórnik (prov. Poznań — Poland) collected in 1948—1949. *Acta Soc. Bot. Polon.* **23**, 3, Warszawa 1954, str. 617—634.

V. PODRĘCZNIKI

41. Duda J. i Zodrow K.: Mikrobiologia rolna. Cz. I. Skrypt. Maszynopis powielony. Stron 87. PWN, Warszawa 1954.
42. Duda J. i Zodrow K.: Ćwiczenia z mikrobiologii rolniczej. Skrypt Wyd. II. Maszynopis powielony. PWN, Poznań, 1954.
43. Miszustin E.: Drobnoustroje termofilne w przyrodzie i praktyce. Przekład zbiorowy z ros. pod redakcją J. Gołębiowskiej. PWRiL, Warszawa 1954, stron 296.
44. Morzycki J.: Mikrobiologia ogólna. Państwowe Zakłady Wydawnictw Lekarskich, Warszawa 1954, stron 220.
45. Skirgiełło A.: Grzyby niższe. Pragrzyby i glonowce. Stron 247. PWN, Warszawa 1954.

Objaśnienia

K — komunikat
R — rozprawa
R-z — referat zbiorowy
A — artykuł
M — monografia
A-r — artykuł-rozprawa

RECENZJE

L o t h a r H a l l m a n n: ***Bakteriologie und Serologie.*** **II Auflage 1955. Georg Thieme Verlag. Stuttgart, 850 stron, cena 58.50 M.**

Ostatnio ukazało się drugie wydanie podręcznika Hallmanna. Rozwój mikrobiologii i serologii w latach 1950—1955 przyczynił się do całkowitej przeróbki przez autora w II-gim wydaniu niektórych rozdziałów np. o antybiotykach, chorobach wirusowych, grzybicach oraz innych.

Całe dzieło składa się z 4 części: 1. Systematyka i biologia bakterii, 2. Bakteriologia szczegółowa, 3. Serologia, 4. Zasady pracy w laboratorium bakteriologicznym.

W pierwszej części Hallmann podaje schemat systematyki bakterii (wg Bergeya) oraz omawia pokrótce niektóre zagadnienia mikrobiologii ogólnej. Warto jest zwrócić uwagę na rozdział dotyczący normalnej flory skóry, śluzówki jamy ustnej i gardzielowej, jelit, dróg oddechowych i moczopłciowych. Następnie przedstawiono zwięzle metody badania materiału zakaźnego. Hallmann podkreśla, że wyizolowanie zarazka z krwi zależy nie tylko od rodzaju, zjadliwości, liczby i łatwości wyhodowania drobnoustrojów, ale również od pobrania i przygotowania probki krwi jako też usunięcia naturalnych i leczniczych substancji bakteriobójczych. Mając na uwadze te ostatnie autor poleca rozcieńczać krew lub dodawać do niej liquoidu, gdy pacjent był leczony sulfonamidami; należy zadziałać na krew kwasem paraaminobenzoesowym, jeśli stosowano penicylinę to penicylinazą.

W drugiej części omówiono poszczególne grupy drobnoustrojów uwzględniając również riketsje, wirusy, grzybki chorobotwórcze oraz pierwotniaki. Dla ułatwienia identyfikacji Hallmann dołączył krótki klucz bakterii. Omawiając rozpoznanie poszczególnych gatunków lub grup drobnoustrojów, autor umieszcza schemat badania materiału zakaźnego. W schemacie można znaleźć również odnośnik do tablic oraz stron na których są dokładniejsze opisy metod badania. Na końcu każdego rozdziału Hallmann daje krytyczny przegląd wartości poszczególnych metod rozpoznawczych i zwraca uwagę na najważniejsze odczyny, przy pomocy których można zidentyfikować dany drobnoustrój.

Autor podaje cały szereg praktycznych wskazówek, cennych dla diagnosty bakteriologa. Na przykład poleca on stosować odczynnik Ehrlicha-Bohma zamiast odczynnika Ehrlicha przy wykrywaniu indolu, ponieważ ten drugi reaguje również z metylindolem. Badając produkcję siarkowodoru należy zwrócić uwagę na to że przez H_2S — merkaptan powoduje zbrązowienie octanu ołowiu.

Hallmann stanął na stanowisku odmiennym od większości autorów tego rodzaju książek. Rezygnuje on z nadmiernej ilości recept pożywek bakteriologicznych (zostały one zebrane w podręczniku tegoż autora „Bakteriologische Nährboden"), natomiast załącza cały szereg przepisów odczynów wprowadzonych w ostatnich latach, lub znanych już dawniej ale zazwyczaj pomijanych. Znajdziemy tam więc opis zastosowania odczynu Coombsa w bakteriologii, wykrywania oporności saprofitów i pałeczek

fosfatazy, oksydazy i peroksydazy, odczyn Kujumgieffa z prontosilem, odczynu Dobré przy *lymphadenitis* i wiele innych. Mniej znane do niedawna zagadnienia np. toksoplazmozę opisuje dokładniej, natomiast rezygnuje z podawania szczegółowych przepisów różnych modyfikacji odczynów serologicznych przy kile nie omieszkując jednakże podać odnośnej literatury. Słusznie autor uwypukla pokrewieństwa antygenowe występujące między bakteriami oraz między wirusami.

Do rozdziału grzybków dołączony został klucz dla ich rozpoznania oraz słowniczek mykologiczny, co jest pożądane ze względu na specyfikę zagadnienia.

Hallmann — podobnie do wielu innych praktyków bakteriologów — wprowadza pewne uproszczenia do swojej książki. Na przykład podaje on, że *Erysipelothrix rhusiopathiae* nie wytwarza katalazy, *Streptococcus agalactiae* nie hemolizuje krwinek, a przecież wiemy, że niektóre szczepy włoskowca produkują katalazę oraz pewne szczepy paciorkowca bezmleczności powodują hemolizę α lub nawet β. Hallmann podaje, że w odróżnieniu od laseczki wąglika niechorobotwórcze laseczki tlenowe nie ścinają mleka. Jest to również uproszczeniem zagadnienia — laseczki tlenowe niepatogenne mogą również ścinać mleko.

Na stronie 206 zaznaczono, że *Bact. hipolare septicum* nie wytwarza H_2S, podczas gdy produkcja siarkowodoru jest jedną z charakterystycznych cech tegoż drobnoustroju. Na stronie 346 autor podaje błędnie, że *Cl. tetani* nie produkuje indolu. Na stronie 403 odnośnie wirusa *hepatitis* podano: „wyróżnia się 3 standartowe szczepy: wirus A(PRB Francis), wirus B(Lee Francis), wirus C(1233 Taylor). Te symbole stasowane są przy oznaczaniu wirusów standartowych grypy, a nie *hepatitis*.

Autor słusznie omawia szczegółowiej technikę pobierania i wysyłkę materiału zakaźnego, podaje zasady bezpieczeństwa pracy oraz postępowania w wypadku zakażenia laboratoryjnego. Z tegoż podręcznika dowiadujemy się, że w NRF produkowane są (głównie przez f-mę Hoechst) preparaty stosowane śródskórnie dla rozpoznania chorób pasożytniczych i grzybic np.: toksoplazmina, trichophytina, coccidiodyna, histoplazmina, oraz przy włośnicy i bąblowicy. Wartość książki Hallmanna podnoszą liczne, częściowo kolorowe zdjęcia i ryciny oraz wiele udanych, ciekawie rozwiązanych schematów. Materiały, z których częściej się korzysta — klucz bakterii oraz recepty odczynników i barwików zostały wydrukowane na żółtych kartkach, zaś strony z tablicami własności biochemicznych i serologicznych *Salmonella* mają zacieniowane brzegi. W ten sposób można je szybko odnaleźć. Podręcznik został wydany na papierze bezdrzewnym i oprawiony jest w okładkę z plastyku.

Hallmann dzięki swemu doświadczeniu i pomysłowości dał nam dobry, ciekawy i pięknie wydany podręcznik, który jest wartościowym dziełem pomocniczym w laboratoriach naukowych i diagnostycznych.

Z. Lorkiewicz
Zakład Mikrobiologii Ogólnej
UMCS — Lublin

SPIS TREŚCI

str.

R. Pakuła i W. Walczak: O czynniku uczulającym czerwone krwinki, wspólnym dla gronkowców i hemolizujących paciorkowców 235

B. Narbutowicz: Badania nad zmiennością jadotwórczości maczugowców błonicy pod wpływem faga 245

J. Łanowska: Wstępne badania nad wpływem środowiska na występowanie mikoryzy u ziemniaka 265

A. Luchterowa: Zdolność wykorzystania różnych węglowodorów przez bakterie terenów roponośnych 271

H. Oberman: Zapotrzebowanie pokarmowe pięciu szczepów bakterii fermentacji mlekowej 281

J. Strzemska: Bibliografia Polskiej mikrobiologii glebowej za lata 1953 i 1954 289

RECENZJE I DYSKUSJE

L. Hallmann: Bakteriologie und Serologie. II Aufl., 1954, G. Thieme, (Z. Lorkiewicz) 297

СОДЕРЖАНИЕ

Р. Пакула и В. Вальчак: Об факторе сенсибилизирующем красные кровяные тельца, общем для стафилококков и гемолизирующих стрептококков 235
Б. Нарбутович: Исследования над изменчивостью ядообразования *Corynebacterium diphtheriae* под влиянием фагов 245
Я. Лановска: Влияние окружающей среды на образование микоризы на корнях картофеля 265
А. Люхтер: Способность бактерий нефтеносных районов к использованию разного рода углеводородов 271
Г. Оберман: Пищевые потребности на витамины группы В 5 штаммов молочнокислых бактерий 281
Я. Стжемска: Библиография почвенной микробиологии в Польше 1953 и 1954 г. 289

CONTENTS

R. Pakuła and W. Walczak: An erythrocyte-sensitising factor common to staphylococci and haemolytic streptococci 235
B. Narbutowicz: Studies in the conversion to toxigenicity of phage infected atoxic strains of *Corynebacterium diphtheriae* 245
J. Łanowska: Preliminary studies on the influence of the environment upon the mycorrhiza in potato-plants 265
A. Luchter: Utilization of various hydrocarbons by bacteria isolated from oil-fields 271
H. Oberman: Vitamin requirements of five strains of lactic acid bacteria . 281
J. Strzemska: Index of Polish soil-microbiological literature for the years 1953 and 1954 289

Cena zł 10.—